

UNIVERSIDADE FEDERAL DO PARANÁ

JULIANO MENDES DE SOUZA

**TRANSPLANTE ISOLADO DE CÉLULAS-TRONCO ADULTAS DE MEDULA
ÓSSEA PARA TRATAMENTO DA CARDIOMIOPATIA ISQUÊMICA CRÔNICA:
AVALIAÇÃO CLÍNICA, ECOCARDIOGRÁFICA E DE SEGURANÇA**

**CURITIBA
2012**

JULIANO MENDES DE SOUZA

**TRANSPLANTE ISOLADO DE CÉLULAS-TRONCO ADULTAS DE MEDULA
ÓSSEA PARA TRATAMENTO DA CARDIOMIOPATIA ISQUÊMICA CRÔNICA:
AVALIAÇÃO CLÍNICA, ECOCARDIOGRÁFICA E DE SEGURANÇA**

Tese apresentada ao Programa de Pós-graduação em
Clínica Cirúrgica do Setor de Ciências da Saúde da
Universidade Federal do Paraná como requisito parcial
para obtenção do Grau de Doutor em Clínica Cirúrgica

Linha de Pesquisa: Avaliação anatomo-funcional do
transplante de órgãos sólidos e tecidos

Orientador: Prof. Dr. Henrique Jorge Stahlke Júnior

Coordenador: Prof. Dr. Antônio Carlos Ligocki Campos

**CURITIBA
2012**



MINISTÉRIO DA EDUCAÇÃO
UNIVERSIDADE FEDERAL DO PARANÁ
SETOR DE CIÊNCIAS DA SAÚDE
PROGRAMA DE PÓS-GRADUAÇÃO EM CLÍNICA CIRÚRGICA
NÍVEL MESTRADO - DOUTORADO

DECLARAÇÃO

Declaramos que o aluno **JULIANO MENDES DE SOUZA**, completou os requisitos necessários para obtenção do Grau Acadêmico de Doutor em Clínica Cirúrgica, ofertado pela Universidade Federal do Paraná.

Para obtê-los, concluiu os créditos didáticos previstos no Regimento do Programa e apresentou sua tese sob título **TRANSPLANTE ISOLADO DE CÉLULAS-TRONCO DE MEDULA ÓSSEA PARA TRATAMENTO DA CARDIOMIOPATIA ISQUÊMICA CRÔNICA: AVALIAÇÃO CLÍNICA, ECOCARDIOGRÁFICA E DE SEGURANÇA** em tempo hábil.

A tese foi defendida nesta data e aprovada pela Banca Examinadora de Avaliação composta pelos Professores Doutores José Dantas de Lima Júnior, Nelson Itiro Miyague, Ronaldo da Rocha Loures Bueno, Leonardo Andrade Mulinari- Membros e Roberto Gomes de Carvalho - Presidente da Banca.

E, por ser verdade, firmo a presente.

Curitiba, 18 de maio de 2012


Prof. Dr. Jorge Eduardo Fouto Matias
Vice-coordenador

Aos meus pais: meus exemplos de vida.

Pai, saudade ...

À minha esposa, por sua compreensão,
cuidado e presente amor.

AGRADECIMENTOS

À Deus, pela dádiva da vida, por suas bênçãos e proteção.

Ao Prof. Dr. Henrique Jorge Stahlke Junior, pelas orientações e observações fundamentais para concretização desta tese.

Ao saudoso Prof. Dr. Danton Richlin da Rocha Loures, pela amizade, pela transmissão do conhecimento e pelo exemplo de dedicação.

Ao Prof. Dr. Antônio Carlos Ligocki Campos, pela coordenação do programa de pós-graduação e aceitação desta tese.

Ao Governo do Estado do Paraná e Secretaria de Estado de Ciência e Tecnologia pelo suporte financeiro para custeio das pesquisas.

À Funpar, pela administração dos recursos financeiros e esforços no sentido de procurar ao máximo acelerar os processos de compras para o projeto.

À Prof^a Noemi Farah Pereira, pela condução dos trabalhos no laboratório de Imunogenética.

À Prof^a Maria Felicitas Niedfeld Rodriguez, pela condução dos trabalhos no laboratório de Cultura Celular.

Às Prof^{as} Mariester Malvezzi e Miriam P. Beltrami, pela condução dos trabalhos no laboratório de Imunofenotipagem.

À Danielle Malheiros Ferreira, Alexandra Cristina Senegaglia, Carmen Lucia Kuniyoshi Rebelatto, Tamara Borgonovo e Ana Paula Azambuja pelo imprescindível trabalho laboratorial no preparo e caracterização das células-tronco.

Ao Dr. Ricardo João Westphal, pela dedicação na execução dos ecocardiogramas e acompanhamento dos pacientes.

À Dra. Gláucia Taborda Francisco, pela cooperação no laboratório de medicina nuclear e acompanhamento ambulatorial dos pacientes.

À Dra. Oáidia Adelina Nocetti Sermann, pela ativa participação no acompanhamento e tratamento dos primeiros pacientes do projeto.

Ao Dr. Lauro Ervilha e Dr. Luis Carlos Wollner, pela realização dos exames de Cintilografia Miocárdica.

Às anestesistas Caroline Biral Klas, Grazyna Maria Asenko da Costa e Cláudia Gissi, por terem buscado ao máximo o conforto e a segurança dos pacientes nas cirurgias realizadas.

Ao Dr. Carlos Eduardo Valesi pelo valioso auxílio na revisão da editoração.

Ao Dr. Paulo Cesar Buffara Boscardim pela amizade, conselhos e ajuda na elaboração desta tese

Aos Especializandos, Secretárias, Enfermeiras, Técnicos de Laboratório e demais funcionários, pelo trabalho fundamental na assistência aos pacientes.

Não há fatos eternos,
como não há verdades absolutas.

Nietzsche

RESUMO

Desde o ano 1900, as doenças cardiovasculares são a principal causa de óbitos na população geral. A insuficiência cardíaca é reconhecida como um grave problema de saúde pública. Em cinco anos, metade dos pacientes com insuficiência cardíaca morrem. O transplante cardíaco é o tratamento de eleição nos casos de insuficiência cardíaca em estágio final. O número de doadores é insuficiente e 20% dos pacientes em fila de espera morrem a cada ano. A principal causa de desenvolvimento de insuficiência cardíaca é o infarto do miocárdio. O mecanismo pelo qual ocorre a insuficiência cardíaca após o infarto chama-se remodelamento ventricular. Para que ocorra a reversão do remodelamento ventricular, busca-se obter regeneração dos cardiomiócitos e desenvolvimento de neovascularização nas áreas de infarto. As células-tronco podem ser capazes de reverter o remodelamento e restabelecer a capacidade contrátil do miocárdio. Os objetivos desta tese foram: avaliar a segurança e o efeito do transplante autólogo isolado de células-tronco adultas de medula óssea sobre a classe funcional e sobre a contratilidade segmentar do ventrículo esquerdo no tratamento de pacientes portadores de cardiomiopatia isquêmica crônica. Foram selecionados para o estudo seis pacientes adultos consecutivos portadores de cardiomiopatia isquêmica crônica sem indicação de cirurgia de revascularização do miocárdio ou tratamento intervencionista percutâneo. Foram implantadas células-tronco hematopoiéticas via toracotomia anterolateral. Avaliou-se a segurança do procedimento e a classe funcional segundo a NYHA e contratilidade segmentar do ventrículo esquerdo por ecocardiografia com seis meses de seguimento. Não houve evento adverso grave relacionado ao procedimento. Houve melhora da classe funcional em todos os pacientes ($p<0,031$). A avaliação da contratilidade segmentar demonstrou melhora global do VE ($p<0,028$) e dos segmentos comprometidos pelo infarto do miocárdio ($p<0,001$). O transplante epimiocárdico de células-tronco adultas autólogas da medula óssea por toracotomia pode ser considerado como um procedimento cirúrgico seguro e capaz de melhorar a classe funcional de insuficiência cardíaca e a contratilidade miocárdica de segmentos acometidos do ventrículo esquerdo, em pacientes portadores de cardiomiopatia isquêmica crônica.

Palavras-chave: Insuficiência cardíaca. Infarto do miocárdio. Transplante de células-tronco.

ABSTRACT

Since the year 1900, cardiovascular diseases are the leading cause of death in general population. Cardiac failure is known as a serious public health problem. In five years, half of patients with cardiac failure die. Cardiac transplantation is the elected treatment in patients with end-stage cardiac failure, but organs donors are not sufficient and 20% of patients die while on the waiting list every year. The main cause of cardiac failure development is the myocardial infarction. The mechanism that causes cardiac failure after myocardial infarction is called ventricular remodeling. To revert ventricular remodeling, cardiomyocyte regeneration and neovascularization of infarcted areas must occur. The stem cells might be able to revert remodeling and re-establish myocardium contractile capacity. The objectives of this thesis were: to evaluate the safety and the effect of the isolated autologous bone marrow cell transplantation in functional class and left ventricle wall motion for chronic ischemic cardiomyopathy. Six adult consecutive patients with chronic ischemic cardiomyopathy not eligible for CABG or percutaneous treatment were selected. Hematopoietic stem cells were implanted via anterolateral thoracotomy. It were evaluated safety, functional class by NYHA and left ventricle wall motion by echocardiography in a six months follow up. No major adverse effects were related. There was functional class improvement in all patients ($p<0,031$). The wall motion evaluation has shown a global left ventricle improvement ($p<0,028$) and an infarct affected segments wall motion improvement ($p<0,001$). The epimyocardial autologous adult bone marrow stem cell transplantation via left thoracotomy may be considered a safe surgical procedure and may be able to improve heart failure functional class and left ventricle wall motion in chronic ischemic cardiomyopathy.

Keywords: Heart failure. Myocardial infarction. Stem cells transplantation.

LISTA DE ILUSTRAÇÕES

QUADRO 1 - CLASSIFICAÇÃO FUNCIONAL DA NEW YORK HEART ASSOCIATION	17
QUADRO 2 - PERÍODOS DE REALIZAÇÃO DAS AVALIAÇÕES	33
QUADRO 3 - CLASSIFICAÇÃO DAS RECOMENDAÇÕES E NÍVEL DE EVIDÊNCIA CIENTÍFICA PARA TRATAMENTOS	35
QUADRO 4 - DIVISÃO DOS SEGMENTOS DO VENTRÍCULO ESQUERDO POR ECOCARDIOGRAFIA	36
FIGURA 1 - DIAGRAMA COM A DIVISÃO DO VENTRÍCULO ESQUERDO EM 17 SEGMENTOS E JANELAS ECOCARDIOGRÁFICAS	37

LISTA DE TABELAS

TABELA 1	- CARACTERÍSTICAS DEMOGRÁFICAS E CLÍNICAS DA POPULAÇÃO ESTUDADA	45
TABELA 2	- VALORES DE CLASSE FUNCIONAL (CF) SEGUNDO A NYHA ANTES E APÓS A INTERVENÇÃO E ANÁLISE ESTATÍSTICA..	46
TABELA 3	- DESCRIÇÃO DA MODIFICAÇÃO DA CONTRATILIDADE SEGMENTAR DO VE POR ECOCARDIOGRAFIA APÓS A INTERVENÇÃO E ANÁLISE ESTATÍSTICA	47
TABELA 4	- AVALIAÇÃO DA FRAÇÃO DE EJEÇÃO DO VENTRÍCULO ESQUERDO (FEVE) POR ECOCARDIOGRAMA ANTES E APÓS A INTERVENÇÃO	48

LISTA DE SIGLAS

ABNT	- Associação Brasileira de Normas Técnicas
AHA	- American Heart Association
ANVISA	- Agência Nacional de Vigilância Sanitária
APC	- Alophycoerythrin
BANPESQ	- Banco de Pesquisas da Universidade Federal do Paraná
CABG	- Coronary Artery Bypass Grafting
CD	- Cluster of Differentiation
CEC	- Circulação Extra-Corpórea
CONEP	- Comissão Nacional de Ética em Pesquisa
CPK	- Creatine Phosphokinase
CPK-MB	- Creatine Phosphokinase Myocardium Band
DP	- Desvio Padrão
EDTA	- Ácido Etilenodiamino Tetra-acético
EV	- Endovenosa
FEVE	- Fração de Ejeção do Ventrículo Esquerdo
FITC	- Fluorescein isothiocyanate
FUNPAR	- Fundação da Universidade Federal do Paraná
G-CSF	- Granulocyte-Colony Stimulating Factor
HC-UFPR	- Hospital de Clínicas da Universidade Federal do Paraná
IEMP	- Índice do Escore de Motilidade das Paredes
ISHAGE	- International Society Hematotherapy and Graft Engineering
MO	- Medula Óssea
NYHA	- New York Heart Association
PECy-5	- Phycoerythrin Cyano Dye 5
PVPI	- Polivinilpirrolidona-iodo
RPMI Medium	- Roswell Park Memorial Institute Medium
SIRS	- Systemic Inflammatory Response Syndrome
SPECT	- Single Photon Emission Computer Tomography
TAP	- Tempo de Atividade da Protrombina
TSH	- Tyreostimulant Hormon
T4	- Tetraiodotironina
UTI	- Unidade de Terapia Intensiva

VD	- Ventrículo Direito
VE	- Ventrículo Esquerdo
WMS	- Wall Motion Score
WMSI	- Wall Motion Score Index

LISTA DE SÍMBOLOS

et al	E outros (as)
G _(a)	Força da Gravidade
G _(b)	Gauge
F	French
°C	Graus Celsius
®	Marca Registrada
m ²	Metro quadrado
µl	Microlitro
µm	Micrômetro
ml	Mililitro
mW	Miliwatt
nm	Nanômetro
%	Porcento
UI	Unidades Internacionais

SUMÁRIO

1 INTRODUÇÃO	14
1.1 OBJETIVOS	15
2 REVISÃO DA LITERATURA	16
2.1 A INSUFICIÊNCIA CARDÍACA	16
2.1.1 Panorama da Insuficiência Cardíaca no Brasil e no Mundo	17
2.1.2 O Remodelamento Ventricular	18
2.1.3 Tratamento Cirúrgico da Insuficiência Cardíaca	19
2.1.4 Capacidade de Regeneração do miocárdio	21
2.2 AS CÉLULAS-TRONCO	21
2.2.1 As Células-Tronco Embrionárias	21
2.2.2 As Células-Tronco Adultas	22
2.2.3 Risco Oncológico das Células-tronco Adultas no Tratamento das Doenças Cardíacas	23
2.3 BASE EXPERIMENTAL DO TRATAMENTO DA INSUFICIÊNCIA CARDÍACA ISQUÊMICA COM CÉLULAS-TRONCO	24
2.4 INÍCIO DA APLICAÇÃO CLÍNICA DAS CÉLULAS-TRONCO NA DOENÇA CARDÍACA ISQUÊMICA	25
2.5 VIAS DE ACESSO PARA TERAPIA CELULAR NAS CARDIOMIOPATIAS ..	28
2.6 USO DE CÉLULAS-TRONCO DA MEDULA ÓSSEA E REVASCULARIZAÇÃO CIRÚRGICA DO MIOCÁRDIO NO TRATAMENTO DA CARDIOMIOPATIA ISQUÊMICA	29
2.7 USO ISOLADO DE CÉLULAS-TRONCO DE MEDULA ÓSSEA NO TRATAMENTO DAS CARDIOMIOPATIAS	30
3 CASUÍSTICA E MÉTODO	32
3.1 CRITÉRIOS DE INCLUSÃO E EXCLUSÃO	33
3.2 AVALIAÇÃO CLÍNICA	34
3.2.1 Definição de Tratamento Medicamentoso Máximo	34
3.3 AVALIAÇÃO DA CONTRATILIDADE MIOCÁRDICA	35
3.4 AVALIAÇÃO DE SEGURANÇA	38
3.5 PROTOCOLOS	39
3.5.1 Protocolo para Coleta da Medula Óssea	40
3.5.2 Protocolo para Separação das Células Mononucleares	41
3.5.3 Protocolo de Marcadores para Identificação das Populações Celulares.....	43
3.5.4 Protocolo para Implante Celular Intramiocárdico	43
4 RESULTADOS	45
4.1 CARACTERÍSTICAS DA POPULAÇÃO	45
4.2 AVALIAÇÃO CLÍNICA DA CLASSE FUNCIONAL	46
4.3 AVALIAÇÃO DA CONTRATILIDADE SEGMENTAR	47
4.4 AVALIAÇÃO DE SEGURANÇA	48
4.4.1 Fração de Ejeção do Ventrículo Esquerdo	48
4.4.2 Outras Avaliações de Segurança	49
5 DISCUSSÃO	50
5.1 PERSPECTIVAS FUTURAS	53
6 CONCLUSÕES.....	56
REFERÊNCIAS	57
DOCUMENTOS CONSULTADOS	64
APÊNDICES	65
ANEXOS	68

1 INTRODUÇÃO

As doenças cardiovasculares representam aproximadamente 35% do total de óbitos ocorridos nos Estados Unidos por ano. Constituem a principal causa de óbitos na população geral desde o ano 1900 (AHA, 2009). A cardiomiopatia isquêmica é a maior causa de desenvolvimento de insuficiência cardíaca congestiva e apresenta uma mortalidade de 50% em cinco anos (SUTTON, 1990).

No Brasil, 34% dos óbitos ocorridos na população acima de 40 anos são devidos a doenças do aparelho circulatório. Dentre estes óbitos, 30% decorrem de doenças isquêmicas do coração. Nesta população, 23,5% dos internamentos realizados pelo Sistema Único de Saúde são motivados por doenças do aparelho circulatório (BRASIL, 2005).

Os tratamentos atuais de cardiologia intervencionista e da cirurgia cardíaca, complementares ao tratamento clínico otimizado, ainda não conseguiram despontar como procedimentos padrão. A cardiomioplastia, o transplante cardíaco, os marcapassos ressincronizadores e os dispositivos mecânicos de assistência ventricular carregam transtornos e limitações. Apesar de todos estes avanços, ainda existem inúmeros pacientes não adequadamente tratados ou convivendo com os inconvenientes de cada terapia (BRAILE, 2005).

O mecanismo pelo qual ocorre o desenvolvimento de insuficiência cardíaca após o infarto agudo do miocárdio é conhecido por remodelamento ventricular. Este fenômeno ocorre por alterações agudas e crônicas tanto na área infartada quanto no tecido não necrótico ao redor do infarto (PFEFFER, 1990).

Para que ocorra a reversão do remodelamento ventricular, busca-se obter regeneração dos cardiomiócitos e desenvolvimento de neovascularização na área infartada (SCORSIN, 1996; JAIN, 2001; SCORSIN, 2001).

Foi sugerido por estudos experimentais em animais que células-tronco derivadas da medula óssea e do sangue periférico podem, depois de purificadas e separadas *in vitro*, ser implantadas em áreas de fibrose do miocárdio consequente

ao infarto e levar à regeneração destas áreas, sendo capazes de recuperar parcialmente a capacidade contrátil (ORLIC, 2001).

Vários estudos objetivaram o tratamento da cardiomiopatia isquêmica com o uso de células-tronco concomitante à cirurgia de revascularização do miocárdio. Contudo a efetiva melhora objetiva da função ventricular segmentar e global não pode ser individualizada para o real papel da terapia celular neste processo.

O implante intramiocárdico de células-tronco é o que possibilita maior permanência das células no tecido alvo e teoricamente, maior efetividade. O implante pode ser realizado por via percutânea endomiocárdica através do mapeamento eletromecânico do ventrículo esquerdo (não disponível em nosso meio) ou epimiocárdico via toracotomia anterolateral esquerda (TEMPLIN, 2011).

O tratamento da cardiomiopatia isquêmica crônica com o implante epimiocárdico isolado de células-tronco adultas da medula óssea pode ser uma alternativa viável para o tratamento dos pacientes que não são candidatos ao tratamento intervencionista percutâneo ou à cirurgia de revascularização miocárdica convencional, e que permanecem sintomáticos após o tratamento clínico otimizado.

1.1 OBJETIVOS

Os objetivos desta tese foram:

- a) Avaliar a classe funcional de insuficiência cardíaca pela classificação da *New York Heart Association* (NYHA) antes e após o transplante de células-tronco;
- b) Avaliar a contratilidade segmentar do ventrículo esquerdo, por ecocardiografia, antes e após a intervenção;
- c) Avaliar a segurança do transplante autólogo isolado de células-tronco adultas da medula óssea no tratamento da cardiomiopatia isquêmica crônica via minitoracotomia.

2 REVISÃO DA LITERATURA

2.1 A INSUFICIÊNCIA CARDÍACA

A Insuficiência Cardíaca é uma síndrome que pode ser definida como uma desordem estrutural ou funcional do coração que conduz à diminuição da capacidade de enchimento ou ejeção ventricular. Esta característica pode ou não estar associada a pressões de enchimento ventricular acima das fisiológicas (FELKER, 2003).

Os indícios de reconhecimento e tratamento da insuficiência cardíaca datam do final do século XVIII. Os trabalhos de William Withering em Birmingham, na Inglaterra, foram os primeiros a descrever o uso de digital no tratamento da síndrome que cursava com hidropsia e anasarca (KOUCHOUKOS, 2003).

As manifestações clínicas principais da insuficiência cardíaca são dispneia e fadiga, que podem limitar a tolerância ao exercício. Retenção hídrica, edema periférico e congestão pulmonar podem estar presentes. Estas anormalidades podem comprometer a capacidade funcional e a qualidade de vida e podem não estar presentes sempre ao mesmo tempo (AHA, 2005).

Os pacientes portadores de insuficiência cardíaca podem ou não ser sintomáticos. Em 1928 a *New York Heart Association* (NYHA) formulou uma classificação funcional para os pacientes com esta síndrome. Esta classificação passou por atualizações e a que atualmente está em uso encontra-se descrita no QUADRO 1 (AHA, 1994).

Classe I. Pacientes com doença cardíaca, mas sem resultar em limitação da atividade física. Atividade física de rotina não causa fadiga, palpitação, dispnéia ou dor anginosa.
Classe II. Pacientes com doença cardíaca que resulta em limitação leve da atividade física. Pacientes confortáveis no repouso. Atividade física de rotina resulta em fadiga, palpitação dispnéia ou dor anginosa.
Classe III. Pacientes com doença cardíaca que resulta em limitação franca da atividade física. Pacientes confortáveis no repouso. Atividades menores que as de rotina causam fadiga, palpitação, dispnéia ou dor anginosa.
Classe IV. Pacientes com doença cardíaca que resulta na incapacidade de realizar qualquer atividade física sem que ocorra desconforto. Sintomas de insuficiência cardíaca ou de síndrome anginosa podem estar presentes inclusive no repouso. Se qualquer atividade física é realizada, o desconforto aumenta.

QUADRO 1 - CLASSIFICAÇÃO FUNCIONAL DA NEW YORK HEART ASSOCIATION

FONTE: AHA (1994)

2.1.1 Panorama da Insuficiência Cardíaca no Brasil e no Mundo

A insuficiência cardíaca é reconhecida como um grave problema de saúde pública. Em virtude do envelhecimento da população e da maior expectativa de vida, estima-se que cerca de 1 a 2% da população geral de países desenvolvidos seja acometida por insuficiência cardíaca (ROSSI NETO, 2004).

Maus hábitos alimentares, fumo, sedentarismo e obesidade são fatores de risco no desenvolvimento de hipertensão arterial sistêmica, diabetes e doença coronariana. A insuficiência cardíaca manifesta-se no último estágio da evolução destas e de outras doenças (ROSSI NETO, 2004).

Mesmo sendo o Brasil um país em transição epidemiológica, os fatores de risco para o desenvolvimento da insuficiência cardíaca se assemelham aos do restante do mundo (PIEGAS, 2003).

A etiologia mais freqüente da insuficiência cardíaca no Brasil é a cardiomiopatia isquêmica, correspondendo a 33% dos casos. A segunda causa mais freqüente é a cardiomiopatia dilatada (26%), seguida pela reumática (22%), hipertensiva (7%) e chagásica (6%) (MENDEZ, 2001).

2.1.2 O Remodelamento Ventricular

Imediatamente após o infarto do miocárdio, complexas alterações da arquitetura ventricular ocorrem tanto na zona infartada quanto em áreas não infartadas. Além da necrose das miofibrilas, há desintegração do colágeno interfibrilar, tornando a região mais propensa a deformações (ZORNOFF, 2002).

Diminuição da espessura e alongamento da parede ventricular infartada, dilatação e hipertrofia excêntrica de regiões ventriculares viáveis estão inevitavelmente presentes. As alterações geométricas e contráteis regionais do ventrículo esquerdo secundárias ao infarto alteram a eficiência mecânica do coração. Este conjunto de alterações é conhecido por Remodelamento Ventricular. A função ventricular e o prognóstico do paciente estão diretamente relacionados à extensão deste remodelamento (PFEFFER, 1990).

No processo de remodelamento, cronicamente ocorrem alterações da expressão gênica, bioquímicas e estruturais que levam a disfunção ventricular progressiva (ZORNOFF, 2002).

Vários fatores podem influenciar a extensão e a evolução do remodelamento. Fatores mecânicos como a sobrecarga hemodinâmica (pressórica e volumétrica) e a extensão da área do infarto estão envolvidos (ZORNOFF, 2002).

Expressão de formas imaturas de proteínas contráteis, alterações da funcionalidade dos canais de cálcio, modificações na resposta local a estímulos adrenérgicos, desestruturação do citoesqueleto e da matriz extracelular estão profundamente envolvidos no processo de remodelamento (ZORNOFF, 2002).

As modificações que o coração sofre nas suas dimensões, geometria e função ao longo do tempo caracterizadas pelo remodelamento ventricular, podem ser quantificadas pelo ecocardiograma bidimensional (LANG, 2005).

2.1.3 O Tratamento Cirúrgico da Insuficiência Cardíaca

O tratamento de eleição para a insuficiência cardíaca em estágio final e refratária ao tratamento clínico é o transplante cardíaco. ele está indicado quando a estimativa de sobrevida e de qualidade de vida do paciente com insuficiência cardíaca é inferior àquela obtida com o transplante (KOUCHOUKOS, 2003).

Em virtude da carência de doadores, cerca de 20% dos pacientes em fila de espera para transplante cardíaco em países desenvolvidos morrem a cada ano (HOSENPUD, 2000).

Como alternativas ao transplante cardíaco, novas técnicas cirúrgicas e releituras de técnicas consagradas passaram a ser utilizadas (KOUCHOUKOS, 2003).

A cirurgia de revascularização do miocárdio é capaz de promover remodelamento reverso em pacientes com grave comprometimento da função ventricular esquerda, contanto que a fração de ejeção seja superior a 20% (HAUSMANN, 1997; KOUCHOUKOS, 2003; RIBEIRO, 2005).

O tratamento das doenças valvares, particularmente a insuficiência mitral, que decorrem do remodelamento ventricular e da dilatação do ventrículo esquerdo também é realizado. Pacientes com doença valvar aórtica e com comprometimento importante da função ventricular esquerda podem ser tratados com a substituição valvar, obtendo melhora dos sintomas de insuficiência cardíaca (KOUCHOUKOS, 2003).

A ventriculectomia parcial esquerda descrita por Batista (1997), baseada na lei de Laplace, busca diminuir a tensão na parede ventricular com a redução do raio do ventrículo esquerdo. A força de contração miocárdica é otimizada com a diminuição do estresse da parede ventricular. Esta técnica, apesar de controversa, permanece em uso com indicações restritas (ISOMURA, 2011).

A exclusão de zonas de fibrose do miocárdio e a ressecção de aneurismas ventriculares podem ser utilizadas também com o intuito de restabelecer a geometria

original elipsóide do ventrículo esquerdo. A exclusão destes segmentos não funcionantes acaba por otimizar a eficiência mecânica do ventrículo esquerdo (JATENE, 1985; DOR, 1998).

Baseados no mesmo princípio de restaurar a forma original e ideal do ventrículo esquerdo, foram desenvolvidas malhas artificiais que recobrem o coração e constroem o ventrículo esquerdo. Até o momento poucos pacientes foram tratados com esta técnica (KONERTZ, 2001).

Sistemas de assistência mecânica foram criados ou aperfeiçoados. Eles podem auxiliar no aumento do débito cardíaco por compressão direta dos ventrículos; como bombas circulatórias parcialmente implantáveis ou externas, de fluxo pulsátil ou contínuo; ou então por compressão de segmentos específicos da aorta torácica (FRANCO, 2001; OZ, 2002).

Também com o princípio de auxiliar a contração miocárdica externamente, a cardiomioplastia dinâmica utilizando um retalho do músculo grande dorsal pode ser utilizada. O retalho muscular envolve o coração e a sincronia da contração ocorre através de eletroestimulação com marcapasso artificial. O desenvolvimento de arritmias ventriculares graves e a falência do músculo esquelético são problemas desta técnica (CHACHQUES, 1989; KOUCHOUKOS, 2003).

Foi demonstrado que os pacientes com insuficiência cardíaca e que apresentam bloqueio do ramo esquerdo do feixe de His podem apresentar dissincronia de contração de regiões específicas do ventrículo esquerdo. Este fenômeno ocasiona movimento paradoxal do septo interventricular e piora da insuficiência mitral e do débito cardíaco. O prolongamento do intervalo PR, com contração atrial precoce, também pode estar relacionado com a regurgitação mitral e diminuição do volume de enchimento ventricular. O uso da estimulação elétrica biventricular busca corrigir esta dissincronia atrioventricular e interventricular, otimizando a função do VE (AURICCHIO, 2002; KOUCHOUKOS, 2003).

Os benefícios desta terapia de ressincronização ventricular incluem reversão do remodelamento ventricular, melhora da capacidade funcional, redução da

hospitalização por insuficiência cardíaca e diminuição da mortalidade. Atualmente as indicações têm sido ampliadas, inclusive para pacientes menos sintomáticos (Classes Funcionais I e II), com resultados favoráveis (SINGH, 2012).

2.1.4 Capacidade de regeneração do miocárdio

Acreditava-se que o coração era um órgão incapaz de se regenerar. Todo dano miocárdico seria reparado pela ação dos fibroblastos, no processo de cicatrização, gerando fibrose (OETTGEN, 2006).

Evidências surgiram provando a existência de células-tronco residentes no próprio miocárdio, com capacidade de se diferenciar em cardiomiócitos e de se autorregenerar (OETTGEN, 2006).

Constatou-se que cerca da metade dos cardiomiócitos são renovados ao longo da vida. Esta taxa de renovação é da ordem de 1% por ano aos 25 anos de idade e cai para 0,45% aos 75 anos. O desenvolvimento de terapias que possam agir nesta taxa de renovação seria racional (BERGMANN, 2009).

2.2 AS CÉLULAS-TRONCO

As células-tronco são células indiferenciadas que têm a capacidade de gerar uma linhagem de células altamente especializadas e ao mesmo tempo, manterem-se no estado indiferenciado (MOTA, 2005; OETTGEN, 2006).

Conforme a forma de obtenção, podem ser divididas em dois tipos essenciais: as células-tronco embrionárias e as células-tronco adultas (OETTGEN, 2006).

2.2.1 As Células-Tronco Embrionárias

As Células-Tronco Embrionárias são obtidas através da aspiração da massa celular interna do blastocisto. Possuem a capacidade pluripotencial de se diferenciar

em células de qualquer um dos três folhetos embrionários (endoderma, ectoderma e mesoderma). Incorporam também a capacidade praticamente infinita de autorrenovação (MOTA, 2005; OETTGEN, 2006).

A sua utilização implica no confronto de conceitos éticos e religiosos, visto haver a destruição do embrião para que ocorra a sua extração para posterior utilização (MOTA, 2005).

Estudos com células-tronco embrionárias humanas estão em curso no campo das experimentações *in vitro* e em animais. O maior potencial já sabido da ocorrência de problemas com o seu uso está na formação de teratomas. Estas células podem apresentar diferenciação desorganizada quando são submetidas a cultura (MOTA, 2005).

A utilização em humanos das células-tronco embrionárias implica inevitavelmente em imunossupressão ou uso em pacientes isogênicos (MCGLAVE, 2000; OETTGEN, 2006).

2.2.2 As Células-Tronco Adultas

As células-tronco adultas em uso para terapia celular cardíaca são aquelas derivadas da medula óssea, os mioblastos esqueléticos e as células-tronco cardíacas residentes (OETTGEN, 2006).

Vários tipos de células-tronco podem ser isoladas da medula óssea, visto haver várias subpopulações com diferenciações específicas como: células-tronco hematopoiéticas, células progenitoras endoteliais e as células-tronco mesenquimais (OETTGEN, 2006).

As células-tronco hematopoiéticas expressam o marcador CD 34 (antígeno precursor hematopoiético). Estão em maior número e correspondem entre 1 a 2% da população celular da medula óssea. As células mononucleares expressam o marcador CD 45 (antígeno comum dos leucócitos). Entre estas células cerca de 4 a 5% são células-tronco CD 34 (VERFAILLIE, 2000).

As células progenitoras endoteliais e as células-tronco mesenquimais estão presentes em número muito menor, em torno de 0,01%. necessitam de cultura e expansão *in vitro* para que seu efeito na terapia celular possa ser estudado (VERFAILLIE, 2000; JAIN, 2005; OETTGEN, 2006).

As células mioblásticas esqueléticas são uma população de células progenitoras que podem ser isoladas de biópsias de músculos esqueléticos expandidas *in vitro*. Estas células, quando aplicadas no miocárdio, podem se diferenciar em células com miotúbulos contráteis. Elas também podem prover efeito parácrino sobre os cardiomiócitos, levando à melhora da função ventricular esquerda. Entretanto, existem evidências de que estas células podem não se acoplar eletricamente com os cardiomiócitos, levando ao desenvolvimento de arritmias ventriculares, na dependência do tipo de meio utilizado na sua cultura (CHIU, 1995; MENASCHÉ, 2005; OETTGEN, 2006; MENASCHÉ, 2008).

Já as células-tronco cardíacas residentes podem ser obtidas por biópsias do miocárdio ou através de explantes cardíacos. Estas células possuem a capacidade de se diferenciarem em cardiomiócitos e, quando injetadas em áreas de infarto do miocárdio, podem melhorar a capacidade contrátil. Em virtude da dificuldade de obtenção e da necessidade de cultura prolongada *in vitro*, seu uso é restrito (OETTGEN, 2006).

2.2.3 Risco oncológico das células-tronco adultas no tratamento das doenças cardíacas

A partir dos conceitos teóricos que as células-tronco são capazes de autorrenovação e de diferenciação em várias linhagens de tecidos, de acordo com os estímulos celulares locais, a formação de tumores pode ser considerada um efeito adverso da terapia que deve ser sempre considerado (KOSTANTINOS, 2011).

Apesar da baixa prevalência dos tumores cardíacos, estudos com células-tronco mesenquimais em roedores chegaram a apresentar 33% de desenvolvimento de tumores. Foram evidenciadas múltiplas anormalidades cromossômicas nestes

tipos celulares submetidos à cultura (BUTANY, 2005; KOSTANTINOS, 2011).

Esta constatação experimental não foi observada em culturas de células mesenquimais humanas. Grandes diferenças na oncogênese murina e humana foram afirmadas, tanto que a instabilidade cromossômica nas células mesenquimais humanas só ocorreria após tempo prolongado de cultura, muito superior aos utilizados nos ensaios clínicos (KOSTANTINOS, 2011).

Com o uso de células-tronco hematopoiéticas, não submetidas a cultura, o risco oncogênico é somente teórico. Nos últimos dez anos, mais de 700 pacientes receberam este tipo celular para tratamento das cardiomiopatias ao redor do mundo. Nenhuma evidência de desenvolvimento de tumores foi descrita (KOSTANTINOS, 2011).

2.3 BASE EXPERIMENTAL DO TRATAMENTO DA INSUFICIÊNCIA CARDÍACA ISQUÊMICA COM CÉLULAS-TRONCO

Foi sugerido por estudos experimentais em animais que células-tronco derivadas da medula óssea e do sangue periférico podem, depois de purificadas e separadas *in vitro*, ser implantadas em áreas de fibrose do miocárdio consequente ao infarto e levar à regeneração destas áreas de miocárdio infartado (ORLIC, 2001).

No estudo pioneiro de Orlic (2001) foram utilizados ratos Wistar nos quais uma artéria coronária foi ligada cirurgicamente, reproduzindo um infarto agudo do miocárdio. Após cessar a contratilidade miocárdica na região irrigada pela coronária ligada, foi injetada na borda do tecido infartado solução de células-tronco de medula óssea marcadas. Nove dias após o implante, em análise histológica, havia miocárdio ocupando 68% da área infartada, em média.

Foi constatado por Fuchs (2001) que células-tronco de medula óssea também podem estimular o desenvolvimento de neovascularização em áreas de miocárdio isquêmico. Neste estudo foram utilizados 14 porcos (sete no grupo estudo e sete no grupo controle) que também foram submetidos à ligadura de uma artéria coronária,

provocando o infarto agudo do miocárdio. Quatro semanas após o infarto, os animais do grupo estudo receberam células-tronco por via transmiocárdica. Dois meses após o implante, os porcos do grupo estudo obtiveram maior aumento do fluxo sanguíneo colateral e aumento da contratilidade ventricular esquerda quando comparados ao grupo controle.

Kawamoto (2001) e Kocher (2001) obtiveram resultados positivos em experimentos em animais com relação a evidências de neovascularização das áreas infartadas.

Kawamoto demonstrou que células progenitoras endoteliais obtidas do sangue periférico de humanos migram para áreas de infarto agudo do miocárdio de ratos, quando injetadas na circulação periférica. Apesar do pequeno número de animais neste experimento, ele concluiu ter havido neovascularização e melhora da função contrátil do ventrículo esquerdo.

Kocher também demonstrou haver angiogênese, vasculogênese e retardo do remodelamento ventricular quando utilizou células progenitoras endoteliais (hemangioblastos) no tratamento de áreas ventriculares isquêmicas.

Foi possível provar com análises imuno-histoquímicas o desenvolvimento de neovascularização e repopulação de cardiomiócitos. Constatou-se também melhora da função ventricular esquerda medida pela fração de ejeção do ventrículo esquerdo por ecocardiografia (ORLIC, 2001 e FUCHS, 2001).

2.4 INÍCIO DA APLICAÇÃO CLÍNICA DAS CÉLULAS-TRONCO NA DOENÇA CARDÍACA ISQUÊMICA

A utilização desta técnica em humanos foi descrita inicialmente com o estudo pioneiro de Menasché na França. Em um paciente foram implantadas células mioblásticas de músculos esqueléticos em uma área de infarto do miocárdio durante a cirurgia de revascularização do miocárdio. Neste primeiro caso, não houve complicações e o paciente obteve melhora tanto da função ventricular esquerda quanto da classe funcional da insuficiência cardíaca (MENASCHE, 2001).

Dois anos após este estudo, Menasché publica uma série de dez casos (não randomizados e não controlados) com este tipo celular. Houve desenvolvimento de arritmias ventriculares do tipo taquicardia ventricular sustentada em quatro pacientes. Onze meses após o implante das células durante a cirurgia de revascularização do miocárdio, todos os pacientes obtiveram melhora da classe funcional segundo a classificação da *New York Heart Association* e da função ventricular esquerda pela ecocardiografia. Houve um óbito após um ano do estudo como consequência de um Acidente Vascular Encefálico Isquêmico. Este episódio não foi relacionado ao implante celular segundo os autores (MENASCHE, 2003).

Além da via intramiocárdica transoperatória, foi utilizada a via intracoronária por cateterismo percutâneo pioneiramente por Strauer (2002), seguido por Assmus (2002), Chen (2004) e por Wollert (2004).

Strauer (2002) realizou estudo com 20 pacientes: dez no grupo estudo e dez em um grupo controle histórico. Foram incluídos pacientes na fase aguda do infarto do miocárdio submetidos a angioplastia transluminal coronariana e implante de células-tronco de medula óssea. Os resultados foram obtidos após três meses do implante celular com a realização do ecocardiograma bidimensional e cintilografia. Não houve relato de complicações e houve melhora da contratilidade da área infartada, melhora da perfusão miocárdica, diminuição do volume sistólico final e diminuição da área do infarto.

Assmus (2002) comparou em um estudo piloto não randomizado 20 pacientes tratados na fase aguda do infarto do miocárdio submetidos à angioplastia transluminal coronariana. Dez pacientes receberam, após a angioplastia, solução de células-tronco de medula óssea e dez receberam células-tronco de sangue periférico. Após seguimento de quatro meses, houve melhora da fração de ejeção do ventrículo esquerdo, contratilidade segmentar e diminuição dos volumes sistólicos e diastólicos finais do ventrículo esquerdo avaliados por ecocardiograma em ambos os grupos. Não foram documentados efeitos adversos.

Chen (2004) conduziu estudo randomizado controlado por placebo e duplo

cego distribuindo 69 pacientes em grupos estudo e controle. Pacientes encontravam-se na fase aguda do infarto do miocárdio e foram randomizados para receber células-tronco de medula óssea ou solução salina após a angioplastia transluminal coronariana. Após o seguimento de três a seis meses, houve melhora da fração de ejeção do ventrículo esquerdo, perfusão segmentar e contratilidade segmentar tanto no grupo estudo quanto no grupo controle, mas a melhora foi maior no grupo estudo. Não houve relatos de efeitos adversos.

Wollert (2004) conduziu estudo randomizado controlado por placebo em 60 pacientes. Trinta pacientes receberam o tratamento tradicional (angioplastia transluminal coronariana) mais placebo. Os outros 30 pacientes receberam a angioplastia e o tratamento novo (células-tronco da medula óssea). Os pacientes estavam na fase aguda do infarto do miocárdio e o seguimento foi de seis meses. Houve melhora da fração de ejeção do ventrículo esquerdo nos dois grupos, mas esta melhora foi mais acentuada em relação aos exames pré-operatórios no grupo estudo. Também não houve efeitos adversos documentados.

O implante de Células-Tronco pela via endomiocárdica guiada por mapeamento eletromecânico do ventrículo esquerdo, também por cateterismo percutâneo, foi inicialmente publicada em 2003 por Smiths, Tse e Perin.

Perin (2003) realizou um estudo prospectivo não randomizado com 21 pacientes portadores de cardiomiopatia isquêmica. Utilizou células-tronco autólogas de medula óssea. Realizou 15 injeções endocárdicas em áreas de miocárdio hibernante. Obteve melhora da fração de ejeção, diminuição do diâmetro sistólico do ventrículo esquerdo e melhora da classe funcional quando comparado ao grupo controle. Houve um óbito em cada grupo no período de acompanhamento por morte súbita.

Com a terapia celular, foi também estabelecida a melhora da reserva de fluxo coronário (indicativo de normalização do fluxo sanguíneo na microcirculação coronariana). Para esta constatação utilizou-se Doppler intracoronário em pacientes que receberam células-tronco de medula óssea na fase aguda do infarto. A via de

aplicação de células-tronco foi a intracoronariana por cateterismo percutâneo (SCHÄCHINGER, 2006).

2.5 VIAS DE ACESSO PARA TERAPIA CELULAR NAS CARDIOMIOPATIAS

A solução de células-tronco, independente da forma como é obtida (medula óssea, sangue periférico, culturas, biópsias) pode ser utilizada no tratamento das cardiomiopatias pelas seguintes formas: percutânea intracoronariana (arterial ou venosa) e intramiocárdica (endomiocárdica percutânea ou epimiocárdica).

As formas mais utilizadas são: a intracoronariana arterial com ou sem pré-condicionamento isquêmico; a endomiocárdica com mapeamento eletromecânico do ventrículo esquerdo e epimiocárdica durante a cirurgia de revascularização do miocárdio (esternotomia) ou como procedimento isolado (toracotomia anterolateral esquerda).

As vias percutâneas são menos invasivas. Particularmente, a via endomiocárdica exige equipamento de alto custo específico para este fim. As vias intramiocárdicas são as que permitem maior tempo de permanência das células-tronco no tecido alvo (TONGERS, 2011).

A isquemia provoca a liberação de fatores quimiotáticos (de atração e ação celular) que parecem ser preponderantes na permanência e atividade das células-tronco no miocárdio. Esta teoria justifica o atual uso do pré-condicionamento isquêmico (oclusão por balão) nos casos de infusão intracoronariana de células-tronco (FRANGOIANNIS, 2002).

2.6 USO DE CÉLULAS-TRONCO DE MEDULA ÓSSEA E REVASCULARIZAÇÃO CIRÚRGICA DO MIOCÁRDIO NO TRATAMENTO DA CARDIOMIOPATIA ISQUÊMICA

A cirurgia de revascularização do miocárdio é o procedimento utilizado nos casos de doença coronariana que não possa ser tratada clinicamente ou que a angioplastia transluminal coronariana traga resultados menos efetivos (AHA, 2004).

O grande problema é que a revascularização do miocárdio não impede a evolução do remodelamento ventricular na região que sofreu o infarto (desde que não exista sobre esta área artéria coronária que possa receber enxerto). Se nesta região for demonstrada viabilidade miocárdica, até o momento não há procedimento intervencionista que possa ser utilizado e trazer benefícios (PFEFFER, 1990; KOUCHOUKOS, 2003).

A utilização de células-tronco de medula óssea por via intramiocárdica durante a cirurgia de revascularização do miocárdio realizada após a fase aguda do infarto foi realizada primeiramente por Hamano (2001). Foram estudados cinco pacientes consecutivos. Estes pacientes possuíam doença coronariana com indicação cirúrgica. Os pacientes também possuíam uma área do miocárdio que sofreu infarto, mas sobre esta região não havia artéria coronária que pudesse receber um enxerto. Neste segmento ventricular, durante a cirurgia de revascularização do miocárdio, foram implantadas células-tronco de medula óssea. O seguimento foi de um ano e, como resultado, três dos cinco pacientes estudados obtiveram melhora da perfusão miocárdica da área que recebeu as células-tronco, avaliada por cintilografia.

Stamm (2003) estudou 12 pacientes consecutivos com implante de células-tronco de medula óssea durante a cirurgia de revascularização do miocárdio. Ele obteve melhora da função ventricular esquerda (fração de ejeção) medida por ecocardiografia e por tomografia por emissão de fóton simples (SPECT) em oito dos 12 pacientes e melhor perfusão miocárdica em dez dos 12 pacientes avaliados por cintilografia.

Resultados semelhantes também foram obtidos por Ozbaran (2004). Ele comprovou melhora da classe funcional de insuficiência cardíaca (NYHA) e aumento da fração de ejeção do ventrículo esquerdo por ecocardiografia e SPECT. Foi estudada uma série de seis pacientes que receberam células-tronco do sangue periférico mobilizadas da medula óssea com o uso de G-CSF (Granulocyte-Colony Stimulating Factor). O implante celular foi concomitante à cirurgia de revascularização do miocárdio.

2.7 USO ISOLADO DE CÉLULAS-TRONCO DE MEDULA ÓSSEA NO TRATAMENTO DAS CARDIOMIOPATIAS

Em estudo conduzido por Tse (2007), 28 pacientes foram incluídos. Tratou-se de estudo randomizado, placebo controlado e cego. Nos pacientes que receberam células-tronco (endomiocárdicas) foi observada a melhora da fração de ejeção do ventrículo esquerdo (+5,4%) e diminuição da classe funcional pela classificação da NYHA, quando comparados ao grupo placebo.

No Brasil, um dos primeiros trabalhos a utilizar a toracotomia anterolateral esquerda para implante epimiocárdico de células-tronco da medula óssea foi realizado por Kalil (2008). Foram tratados nove pacientes consecutivos portadores de cardiomiopatia dilatada não isquêmica. Caracterizou-se por um estudo de viabilidade e segurança, fase I/IIa. Foi demonstrada a segurança do método e a melhora tanto objetiva quanto subjetiva nas avaliações de curto prazo.

Van Ramshorst (2009) publicou um estudo randomizado, controlado e duplo cego com 50 pacientes. Foram injetadas células-tronco da medula óssea intramiocárdicas para tratamento de pacientes com angina refratária. Em seguimento de três meses houve melhora significativa da perfusão miocárdica (SPECT), severidade da angina e qualidade de vida.

Strauer (2010) conduziu estudo com 391 pacientes portadores de cardiomiopatia isquêmica crônica, já submetidos a tratamento percutâneo na fase

aguda do infarto. O estudo foi prospectivo, controlado e não randomizado. Foram incluídos 191 pacientes no grupo intervenção e 200 pacientes no grupo controle. Os pacientes do grupo estudo receberam solução intracoronária de células-tronco adultas da medula óssea. O seguimento foi de até cinco anos.

Houve melhora do índice cardíaco, volume sistólico, fração de ejeção, classificação da NYHA, volumes sistólicos e diastólicos finais. Diminuição da mortalidade e densidade de arritmias ventriculares também foram evidenciadas comparativamente ao grupo controle. Este padrão de melhora respeitou um pico com três meses de seguimento e um efeito antirremodelamento persistente até cinco anos.

3 CASUÍSTICA E MÉTODO

Este estudo para aplicação clínica das células-tronco de medula óssea para tratamento da cardiomiopatia isquêmica foi aprovado em reunião departamental, registrado no BANPESQ (Banco de Pesquisas da UFPR) e aprovado pela Comissão de Ética em Pesquisa em Seres Humanos do HC-UFPR, conforme o parecer 1909.076/2009-04 (ANEXO).

Os pesquisadores envolvidos neste estudo seguiram a legislação brasileira para a pesquisa que envolva seres humanos e cumpriram na sua integralidade a resolução 196/96 (BRASIL, 1996). Assegurou-se neste estudo que o caráter anônimo dos pacientes foi mantido e que suas identidades estão protegidas de terceiros não autorizados. Todos os pacientes assinaram o termo de consentimento livre e esclarecido (ANEXO).

Tratou-se de um estudo prospectivo de intervenção (Fase I/IIa), aberto, não controlado, não randomizado, visando a aplicação clínica das células-tronco para tratamento da cardiomiopatia isquêmica.

Foram selecionados para o estudo seis pacientes adultos consecutivos portadores de cardiomiopatia isquêmica sem indicação formal de cirurgia de revascularização do miocárdio conforme as diretrizes da *American Heart Association* (AHA, 2004). Pacientes estes originados dos ambulatórios de Cardiologia e de cirurgia torácica e cardiovascular do HC – UFPR e que cumpriram todos os critérios de inclusão no estudo.

Os pacientes receberam o transplante epimiocárdico de células-tronco adultas da medula óssea por toracotomia anterolateral esquerda e foram avaliados por seis meses.

A época da realização das avaliações está descrita no QUADRO 2. O rastreamento de eventos adversos foi permanente até o término do seguimento (seis meses), à exceção da avaliação da fração de ejeção do ventrículo esquerdo (FEVE), feita somente com seis meses após a intervenção.

PRÉ-OPERATÓRIO	SEIS MESES APÓS A OPERAÇÃO
Classe funcional NYHA	Classe funcional NYHA
Laboratoriais de Análises Clínicas	Ecocardiograma
Radiografia de Tórax	Eletrocardiograma/Holter
Eletrocardiograma/Holter	
Cateterismo Cardíaco	
Ecocardiograma	
Cintilografia Miocárdica	

QUADRO 2 - PERÍODOS DE REALIZAÇÃO DAS AVALIAÇÕES.

FONTE: O autor (2012)

3.1 CRITÉRIOS DE INCLUSÃO E EXCLUSÃO

Como critérios de inclusão foram definidos: idade acima de 18 anos; apresentar-se lúcido e capaz; apresentar doença coronariana sem indicação de tratamento percutâneo ou cirúrgico (atestado por pelo menos dois cirurgiões, um hemodinamicista e um cardiologista clínico); apresentar área de discinesia, acinesia ou hipocinesia do ventrículo esquerdo consequente ao infarto agudo do miocárdio (ocorrido há mais de três meses) e que não tenha sobre esta região artéria coronária tratável; apresentar evidência de viabilidade miocárdica na região do infarto pela cintilografia com Tálíio²⁰¹ (SAHA, 1996); apresentar fração de ejeção do ventrículo esquerdo (FEVE) pelo ecocardiograma bidimensional abaixo de 45% e tratamento medicamentoso da insuficiência cardíaca estar estabelecido nas doses máximas toleradas pelo paciente.

Os critérios para exclusão do estudo foram: presença de doença crônica reumatológica; neoplasia maligna diagnosticada; episódios de hemorragia digestiva; insuficiência renal aguda e crônica (creatinina sérica basal acima de 2 mg/dl); ter sido submetido à transfusão sanguínea nos últimos seis meses; ter apresentado infarto agudo do miocárdio nos últimos três meses; presença de qualquer doença

que possa diminuir a expectativa de vida em curto prazo; uso conhecido de substâncias entorpecentes; presença de trombo ventricular esquerdo, doença cardíaca congênita, doença valvar moderada ou grave.

3.2 AVALIAÇÃO CLÍNICA

Foram realizadas avaliações clínicas, por exames de imagem e laboratoriais pré-operatórias, com o objetivo de verificar os critérios para inclusão no estudo e aquisição da variável classe funcional para evidência da modificação do estado clínico da doença. foram obtidos a classe funcional de insuficiência cardíaca (NYHA) por anamnese, radiografia de tórax, eletrocardiograma de 12 derivações, holter, cineangiocoronariografia, cintilografia miocárdica e os seguintes exames laboratoriais de análises clínicas por amostra de sangue periférico: hemograma, sódio, potássio, cálcio, TAP, uréia, creatinina, glicemia de jejum, CPK, CPK-Mb, TSH e T4 livre.

Para análise estatística da classe funcional, cada paciente foi seu próprio controle. Pela provável não normalidade da distribuição, foi aplicado o teste de Wilcoxon para amostras pareadas, adotando-se a significância estatística o valor p menor que 0,05.

3.2.1 Definição de Tratamento Medicamentoso Máximo

Como um dos critérios clínicos de inclusão no estudo, definiu-se como fundamental que o paciente já estivesse em uso das medicações habituais para tratamento da insuficiência cardíaca. Estas medicações deveriam estar nas doses máximas preconizadas e toleradas pelo paciente.

Conforme as diretrizes para tratamento da insuficiência cardíaca da AHA (2005), as medicações em uso deveriam pertencer a pelo menos às seguintes classes: inibidores da enzima conversora da angiotensina, diuréticos e

betabloqueadores (Indicação Classe I com nível de evidência A – QUADRO 3).

Classe I	Benefício muito superior ao risco. O tratamento deve ser administrado. Condições para as quais há evidências conclusivas, ou, na sua falta, consenso geral de que o procedimento é seguro e útil/eficaz.
Classe II	Condições para as quais há evidências conflitantes e/ou divergência de opinião sobre segurança, e utilidade/eficácia do procedimento.
Classe IIa	Benefício superior ao risco. É razoável administrar o tratamento. Peso ou evidência/opinião a favor do procedimento. A maioria aprova. Algumas evidências conflitantes.
Classe IIb	Benefício similar ao risco ou pouco superior. O tratamento pode ser considerado. Segurança e utilidade/eficácia menos bem estabelecida, não havendo predomínio de opiniões a favor. Várias evidências conflitantes.
Classe III	Risco maior que o benefício. O tratamento não deve ser administrado. Condições para as quais há evidências e/ou consenso de que o procedimento não é útil, eficaz e, em alguns casos, pode ser prejudicial. Evidências suficientes.
Nível A	Dados obtidos a partir de múltiplos estudos randomizados de bom porte (3 a 5), concordantes e/ou de meta-análise robusta de estudos clínicos randomizados.
Nível B	Dados obtidos a partir de meta-análise menos robusta, com base em estudos randomizados (2 a 3) ou de estudos não-randomizados (observacionais).
Nível C	Dados obtidos de único estudo ou dados obtidos de opiniões consensuais de especialistas.

QUADRO 3. CLASSIFICAÇÃO DAS RECOMENDAÇÕES E NÍVEL DE EVIDÊNCIA CIENTÍFICA PARA TRATAMENTOS.

FONTE: Modificado de AHA (2005)

3.3 AVALIAÇÃO DA CONTRATILIDADE MIOCÁRDICA

Para avaliação da contratilidade segmentar e da função global do ventrículo esquerdo, foi realizado o ecocardiograma bidimensional com o aparelho HP Sonos 5500[®].

Houve a divisão do ventrículo esquerdo em 17 segmentos (QUADRO 4 e FIGURA 1). Quanto aos níveis (escores) de contratilidade segmentar, definiu-se como: 1-Normal, 2-Hipocinético, 3-Acinético e 4-Discinético. A soma dos escores caracterizou o *Wall Motion Score* (WMS). A média simples dos escores de contratilidade segmentar do ventrículo esquerdo forneceu o *Wall Motion Score Index* (WMSI). Segundo este índice, quanto mais próximo a “um” ele for, melhor a

contratilidade ventricular (FOLLAND, 1979; SHILLER, 1989). Estes índices também foram individualizados para as paredes ventriculares comprometidas, como por exemplo: infarto agudo do miocárdio em parede anterior, WMSI da parede anterior (LANG, 2005).

Parede	Segmento
Anterior	Basal
	Médio
	Apical
Anterolateral	Basal
	Médio
Lateral	Apical
Ínferolateral	Basal
	Médio
Inferior	Basal
	Médio
	Apical
Septal Inferior	Basal
	Médio
Septal Anterior	Basal
	Médio
Septal	Apical
Ápice	

QUADRO 4. DIVISÃO DOS SEGMENTOS DO VENTRÍCULO ESQUERDO POR ECOCARDIOGRAFIA

FONTE: FOLLAND (1979)

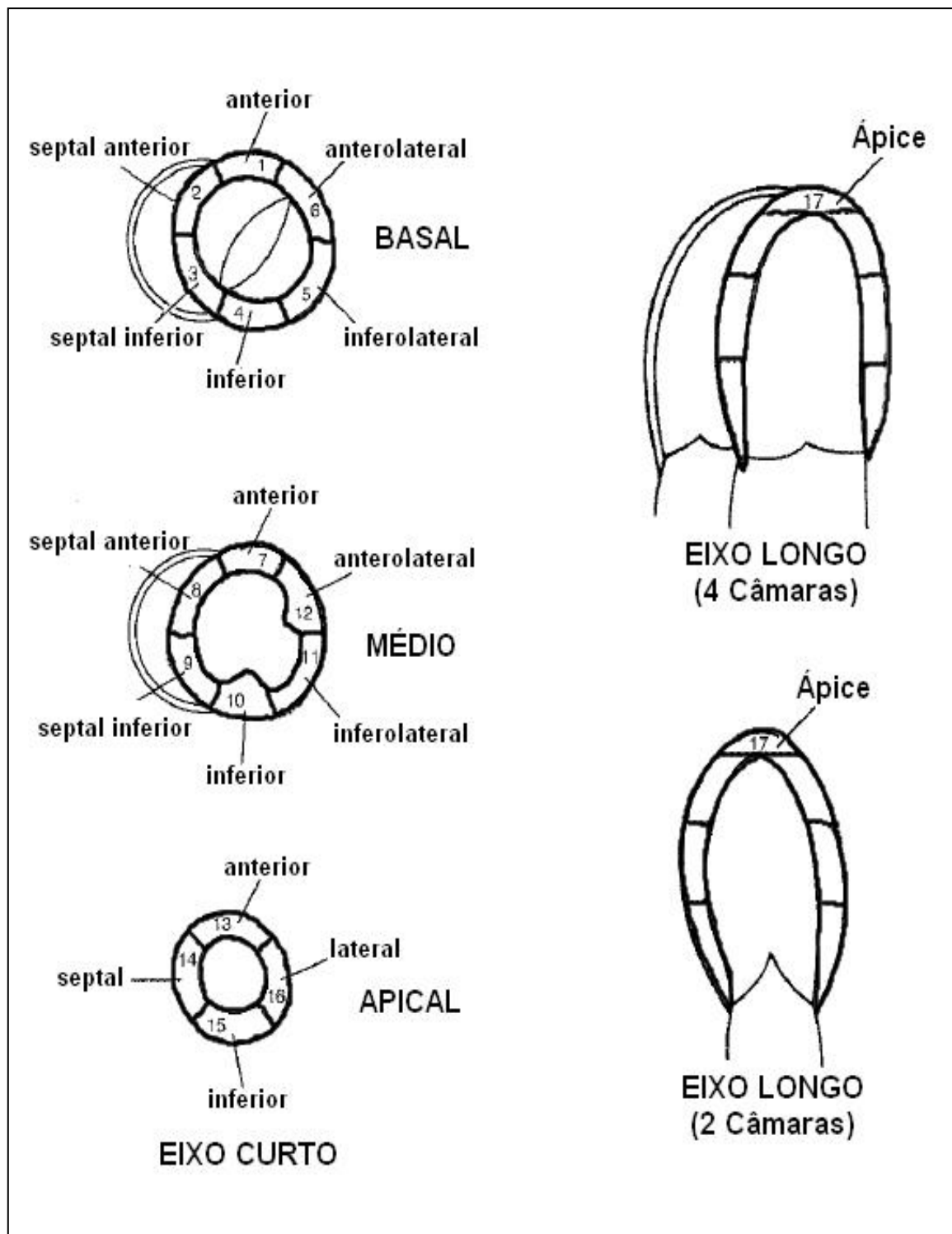


FIGURA 1. DIAGRAMA COM A DIVISÃO DO VENTRÍCULO ESQUERDO EM 17 SEGMENTOS E JANELAS ECOCARDIOGRÁFICAS.

FONTE: CERQUEIRA (2002).

O ecocardiograma foi realizado por dois examinadores que fizeram a leitura do exame de forma independente.

Para a aplicação dos testes estatísticos, considerou-se cada paciente como o seu próprio controle. Os segmentos do miocárdio avaliados pela ecocardiografia foram divididos em dois grupos: Grupo Alterado (segmentos do miocárdio que apresentavam contratilidade alterada) e Grupo Total (todos os segmentos do miocárdio, independente da contratilidade). Foram comparados os escores de contratilidade do Grupo Alterado e do Grupo Total, antes e após a intervenção, utilizando-se os escores isolados, o WMS e o WMSI.

Para análise estatística, pela provável não normalidade da distribuição, foi aplicado o teste não paramétrico de Wilcoxon para amostras pareadas, adotando-se a significância estatística o valor p menor que 0,05.

3.4 AVALIAÇÃO DE SEGURANÇA

Para a avaliação da segurança do implante isolado intramiocárdico de células-tronco, considerou-se o desenvolvimento de novos eventos ameaçadores da vida (eventos adversos graves) em até seis meses da intervenção cirúrgica. Foram avaliadas:

- A Fração de Ejeção do Ventrículo Esquerdo (FEVE) por ecocardiograma bidimensional pela regra de Simpson, sendo considerado evento adverso, a diminuição em 10 pontos da FEVE;
- Óbito por qualquer natureza;
- Eventos coronarianos maiores – angina instável ou novo infarto agudo do miocárdio;
- Infecções em qualquer sítio determinando repercussão clínica sistêmica em avaliação clínica - SIRS (*Systemic Inflammatory Response Syndrome*);
- Eventos neurológicos maiores – acidente vascular encefálico confirmado por método diagnóstico de imagem;

- Arritmias ventriculares graves do tipo taquicardia ventricular sustentada e fibrilação ventricular ou desenvolvimento de novos distúrbios de condução.

3.5 PROTOCOLOS

O protocolo de coleta da medula óssea foi desenvolvido utilizando a experiência do Serviço de Transplante de Medula Óssea do HC-UFPR, que há 30 anos realiza este procedimento para o tratamento das doenças hematológicas e a base da literatura. Com relação aos volumes aspirados, baseou-se nos métodos específicos sobre o uso de células tronco de medula óssea para tratamento das cardiomiopatias (RYAN, 2000; PERIN, 2003; STRAUER 2002; JAIN, 2005; VILLAS-BOAS, 2006; DALLAN, 2008).

Tanto o protocolo para separação das células mononucleares quanto o de identificação das populações celulares com a definição dos antígenos de superfície a serem marcados foram formulados segundo as publicações dos centros pioneiros na pesquisa com células-tronco de medula óssea para tratamento de doenças do coração. Os materiais utilizados neste protocolo estão listados no Apêndice 2 (BÖYUM, 1968; FRESHNEY, 1987; SUTHERLAND, 1996; STRAUER, 2002; PERIN, 2003; STAMM, 2003; STAMM, 2004; SAM, 2005; HAIDER, 2005; VILLAS-BOAS, 2006; ASSMUS, 2006; SEEGER, 2007).

O protocolo de implante intramiocárdico foi utilizado com base nas pesquisas que definiram esta via de implante como sendo a de eleição para tratamento de pacientes que necessitam da cirurgia de revascularização do miocárdio (HAMANO, 2001; STAMM, 2004; OZBARAN, 2004). A pesquisa de Kalil (2008) também foi utilizada no desenvolvimento do protocolo de implante de células-tronco por toracotomia.

3.5.1 Protocolo para Coleta da Medula Óssea

- O paciente deve permanecer em jejum por pelo menos seis horas;
- A coleta deve ser realizada no centro cirúrgico do HC-UFPR;
- Admissão do paciente na sala de preparo do centro cirúrgico pela equipe de enfermagem;
- Conferência do jejum e aferição dos dados vitais. Se adequados, encaminhar o paciente para a sala de cirurgia;
- Paciente posto em decúbito dorsal;
- Punção de um acesso venoso periférico com Abocath® 16 G;
- Monitorização contínua de eletrocardiografia, oximetria de pulso e pressão arterial não invasiva;
- Sedação com midazolam e quetamina EV;
- Coleta de 30 ml de sangue periférico em tubos sem anticoagulante para obtenção de soro autólogo;
- Paciente posto em decúbito ventral com coxim subabdominal;
- Degermação com PVPI da região lombar até o sacro, estendendo-se lateralmente aos flancos;
- Paramentação asséptica da equipe cirúrgica;
- Antissepsia tópica com PVPI e colocação de campos estéreis;
- Anestesia local da crista ilíaca bilateral, próximo à espinha ilíaca pósterio-superior, com xylocaína 2% sem vasoconstritor;
- Punções da crista ilíaca com agulha descartável específica para medula óssea acoplada à seringa plástica de 20 ml. Cada punção deve ser realizada em região distinta da crista ilíaca e obter 5 ml de medula óssea por punção;
- Realizar 20 punções (dez em cada crista ilíaca) para obter o total de 100 ml de medula óssea;
- Entre cada punção, lavar a seringa e a agulha com solução de Heparina Sódica a 10 UI/ml;

- A medula óssea aspirada deve ser transferida para frascos plásticos de 50 ml que devem conter 10 ml do meio RPMI 1640[®] com 50 UI/ml de Heparina Sódica;
- Em cada frasco adiciona-se 10 ml de medula óssea (deve ser mantida a proporção de 10 ml de medula óssea e 10 ml de meio);
- No caso de coleta em sistema fechado (com bolsa de coleta), adicionar 100 ml do meio RPMI a bolsa. Acrescentar 5000 UI de Heparina Sódica. Completar com medula óssea até atingir o volume total de 200 ml (meio + medula óssea);
- Finalizadas as punções, realizar curativo compressivo com gazes e esparadrapo;
- Encaminhar o paciente para a sala de recuperação pós-anestésica;
- Encaminhar os frascos ou a bolsa de coleta em caixa térmica para o laboratório de cultura celular.

3.5.2 Protocolo para Separação das Células Mononucleares

- Em câmara de fluxo laminar, transferir todo o volume coletado nos dez frascos (100ml de medula óssea, 100 ml do meio RPMI 1640[®] e 50 UI/ml de heparina sódica) para um frasco de 400 ml;
- Filtrar a solução para a retirada de coágulos e espículas ósseas nos casos de coleta aberta. Quando a coleta for por sistema fechado, esta etapa é dispensada, por já haver a filtragem na bolsa de coleta;
- Coletar amostras da solução para controle microbiológico (1000 µl) em frascos de hemocultura, contagem de células (300 µl), análise de viabilidade celular (300 µl) e para a caracterização da população celular por citometria de fluxo (500 µl);
- Adicionar o meio RPMI 1640[®] até obter uma diluição final de 1:2 (Medula Óssea : Meio);

- Separar os mononucleares utilizando gradiente de densidade 1.077 de Ficoll-Hypaque[®]. Em tubos de 50 ml contendo 10 ml de Ficoll-Hypaque[®], adicionar lentamente 25 ml da medula óssea diluída na razão 1:2 em RPMI (aproximadamente 16 tubos). A concentração celular da medula óssea não deve ser superior a 1×10^7 células/ml de Ficoll-Hypaque[®] e a razão entre a medula óssea diluída e o Ficoll deve ser de no máximo 3:1;
- Centrifugar durante 30 minutos a 400 G, sem freio, entre 18 e 22° C;
- Utilizando pipetas descartáveis de 10 ml, retirar o anel de mononucleares que se forma na interfase entre o Ficoll[®] e o plasma diluído. Transferir os anéis de mononucleares para tubos de 50 ml (um anel em cada tubo). Adicionar RPMI a cada tubo, até o volume final de 35 a 40 ml;
- Centrifugar durante 10 minutos a 400 G, entre 18 e 22° C, sem freio para maximizar a remoção de plaquetas;
- Lavar os anéis de mononucleares com RPMI 1640[®], reduzindo-se o número de tubos (aproximadamente oito tubos);
- Lavar os anéis de mononucleares por mais uma vez com solução salina suplementada com 10% de soro autólogo (4 ml de soro + 36 ml de solução salina), reduzindo-se o número de tubos (2 tubos);
- Centrifugar durante 10 minutos a 400 G, entre 18 e 22 ° C;
- Ressuspender o fundo do frasco em 10 ml de solução salina suplementada com 20% de soro autólogo. (Preparar 20 ml de soro autólogo, caso seja necessário elevar o volume final para 20 ml: 4 ml soro + 16 ml de solução salina);
- Contar as células em contador automático de células e verificar a viabilidade celular com azul de Tripiano em câmara de Newbauer;
- Filtrar a suspensão celular usando filtros de Nylon[®] de 100 µm (Cell strainer) para retirar possíveis grumos;
- Ajustar o volume final em solução salina suplementada com 20% de soro autólogo para atingir 8 ml de solução de 150 a 500 X 10⁶ células

mononucleares, então distribuídas em oito seringas contendo 1 ml de solução cada;

- Coletar amostras para controle microbiológico (1000 µl), imunofenotipagem (500 µl) e contagem celular (300 µl).

3.5.3 Protocolo de Marcadores para Identificação das Populações Celulares

- Utilização de 500 µl do aspirado da medula óssea e 500 µl da solução final de células mononucleares em frasco com anticoagulante EDTA;
- Painel de anticorpos monoclonais e de calibração para imunofenotipagem no citômetro de fluxo:
 - CD45 ligados ao isotiocianato de fluoresceína (FITC);
 - CD34 ligados a aloficoeritrina (APC);
 - CD45 ligado a ficoeritrina-cianina 5 (PECy-5);
- * Anticorpos da marca Becton Dickinson (BD Biosciences, San Jose, California, EUA).
- Utilizado o citômetro de fluxo de quatro cores FACSCalibur (BD Biosciences, San Jose, California, EUA). Aquisição das imagens feita através do programa CELLQuest®. Análise gráfica realizada pelo programa Paint-A Gate Pro (BD Biosciences, San Jose, California, EUA).

3.5.4 Protocolo para Implante Celular Intramiocárdico

- Punciona-se dois acessos venosos periféricos com Abocath® 14 G ou 16 G e a artéria radial com Abocath® 18 G ou 20 G para aferição contínua da pressão arterial;
- Induz-se a anestesia geral;
- Punciona-se um acesso venoso central em veia jugular interna ou veia subclávia com cateter de duplo lúmen 7 F;

- Realiza-se sondagem vesical de demora com sonda de silicone 14 F ou 16 F;
- Procede-se a antissepsia primária com PVPI do tórax, pescoço, abdome, membros inferiores e região genital;
- Antissepsia secundária com PVPI e colocação de campos estéreis;
- Realiza-se a toracotomia anterolateral esquerda (5 cm de extensão) no 4º ou 5º espaços intercostais;
- O cirurgião recebe oito seringas com agulha (13 x 0,45 mm) contendo 1 ml de solução de células-tronco;
- São realizadas injeções sucessivas de 0,2 ml da solução de células-tronco equitativamente distribuídas na zona de transição entre a área acinética ou hipocinética do ventrículo esquerdo e o miocárdio sadio.
- Revisa-se a hemostasia;
- Procede-se a drenagem torácica;
- Realiza-se a síntese dos planos abertos e aplicam-se os curativos estéreis nas incisões cirúrgicas;
- O paciente é acordado do plano anestésico e encaminhado para a unidade de terapia intensiva;

4 RESULTADOS

Os resultados descritos estão relacionados aos seis pacientes incluídos neste estudo com seis meses de seguimento após a intervenção. Todos os pacientes foram acompanhados e tratados no Hospital de Clínicas da Universidade Federal do Paraná no período de fevereiro de 2009 a janeiro de 2011.

Os pacientes receberam o tratamento proposto de transplante epimiocárdico de células-tronco autólogas da medula óssea como única intervenção além do tratamento clínico medicamentoso já instituído previamente à cirurgia.

4.1 CARACTERÍSTICAS DA POPULAÇÃO

A TABELA 1 mostra as características demográficas e clínicas da população que foi incluída no estudo.

TABELA 1. CARACTERÍSTICAS DEMOGRÁFICAS E CLÍNICAS DA POPULAÇÃO ESTUDADA.

Variável	Valores / Frequência
Idade (anos)	62,5 ± 8,82
Gênero (Masculino %)	100
HAS (%)	100
DLP (%)	100
DM (%)	50
IRC (%)	0
FEVE (Simpson) basal (%)	31,16 ± 8,68

4.2 AVALIAÇÃO CLÍNICA DA CLASSE FUNCIONAL

Foi utilizada a classificação subjetiva de insuficiência cardíaca da NYHA para demonstração da modificação clínica ocorrida com o transplante das células-tronco. Os resultados estão descritos na TABELA 2. Houve melhora da classe funcional em todos os pacientes ($p = 0,0312$).

TABELA 2. VALORES DE CLASSE FUNCIONAL (CF) SEGUNDO A NYHA ANTES E APÓS A INTERVENÇÃO E ANÁLISE ESTATÍSTICA.

Paciente	CF Pré-operatória	CF Pós-operatória (6 meses)
1	3	2
2	4	2
3	4	2
4	3	1
5	3	1
6	4	1
Média	$3,5 \pm 0,54$	$1,5 \pm 0,54$
Mediana	3,5	1,5
Valor de p Teste de Wilcoxon	0,0312	

4.3 AVALIAÇÃO DA CONTRATILIDADE SEGMENTAR

Foi avaliada a contratilidade de todos os segmentos do ventrículo esquerdo antes e após a intervenção (seis meses). Considerou-se para análise estatística todos os segmentos (Grupo Total) e também a divisão regional para os segmentos que apresentavam alteração de contratilidade (Grupo Alterado) antes da operação (graduação 2 – hipocinético, 3 – acinético ou 4 – discinético). Do total de 102 segmentos possíveis (17 segmentos por cada um dos seis pacientes), 75 apresentavam-se com contratilidade alterada pelo ecocardiograma pré-operatório – Grupo Alterado. Os segmentos que apresentavam déficit contrátil foram aqueles que receberam o transplante de células-tronco. Não houve diferenças na avaliação da contratilidade segmentar entre os dois examinadores.

A análise estatística está descrita na TABELA 3. Houve melhora da contratilidade segmentar por estes índices utilizados.

TABELA 3. DESCRIÇÃO DA MODIFICAÇÃO DA CONTRATILIDADE SEGMENTAR DO VE POR ECOCARDIOGRAFIA APÓS A INTERVENÇÃO E ANÁLISE ESTATÍSTICA.

Variável aferida	Pré-operatório	Pós-operatório (6 meses)	Valor de <i>p</i>
Escore Isolado – Grupo Total (102 segmentos avaliados)	1,95 ± 0,74	1,83 ± 0,74	0,0285
WMS – Grupo Total	33,16 ± 6,4	31,33 ± 6,4	0,1250
WMSI – Grupo Total	1,95 ± 0,37	1,84 ± 0,37	0,1250
Escore Isolado – Grupo Alterado (75 segmentos)	2,29 ± 0,56	2,09 ± 0,68	0,0019
WMS – Grupo Alterado	28,5 ± 10,5	25,6 ± 11,5	0,0625
WMSI – Grupo Alterado	2,34 ± 0,51	2,06 ± 0,71	0,0625

Nota: Valores expressos em Média ± Desvio Padrão. Valor de p segundo o Teste de Wilcoxon.

4.4 AVALIAÇÃO DE SEGURANÇA

4.4.1 Fração de Ejeção do Ventrículo Esquerdo

Avaliou-se a FEVE por ecocardiografia antes e após a intervenção. Utilizou-se o método de Simpson e considerou-se como evento adverso a sua diminuição em 10 ou mais pontos. Não houve descrição de evento adverso neste item. Houve melhora da FEVE que variou de $31,16\% \pm 8,68\%$ para $35,16\% \pm 12,67\%$ entretanto, sem significância estatística ($p = 0,4375$). Os resultados da FEVE estão listados na TABELA 4.

TABELA 4. AVALIAÇÃO DA FRAÇÃO DE EJEÇÃO DO VENTRÍCULO ESQUERDO (FEVE) POR ECOCARDIOGRAFIA ANTES E APÓS A INTERVENÇÃO.

Paciente	FEVE pré-intervenção (%)	FEVE pós-intervenção (%)
1	20	29
2	29	20
3	29	29
4	45	43
5	37	56
6	27	34
Média (\pm DP)	$31,16 \pm 8,68$	$35,16\% \pm 12,67$
Mediana	29	31,5
Valor de p Teste de Wilcoxon	0,4375	

4.4.2 Outras avaliações de segurança

Não houve óbitos dos pacientes incluídos neste estudo.

Com relação aos eventos coronarianos maiores, não houve descrição de novo episódio de angina instável ou infarto agudo do miocárdio.

Não houve descrição de infecções em qualquer sítio, seja cirúrgico, urinário ou pulmonar de pouca gravidade ou que determinasse repercussão clínica sistêmica - SIRS (*Systemic Inflammatory Response Syndrome*).

Não houve relato de eventos neurológicos maiores – acidente vascular encefálico.

Com relação à descrição de arritmias ventriculares graves do tipo taquicardia ventricular sustentada, fibrilação ventricular ou desenvolvimento de novos distúrbios de condução, não houve novos eventos descritos nos exames de eletrocardiograma e Holter.

5 DISCUSSÃO

Os resultados deste estudo demonstram uma melhora clínica subjetiva dos pacientes submetidos ao transplante epimiocárdico de células-tronco autólogas adultas da medula óssea.

Desde os primeiros relatos de Gowdak (2003) e Oliveira (2004) sobre a aplicação clínica, no Brasil, de células-tronco hematopoiéticas para o tratamento da cardiomiopatia isquêmica, a melhora clínica subjetiva dos pacientes tem obtido destaque.

O uso da classificação funcional da NYHA é válido, mas não se pode descartar a possibilidade de efeito placebo nesta pequena amostra, embora a melhora tenha sido consistente em todos os pacientes.

Considerando-se que os pacientes portadores de cardiomiopatia isquêmica crônica podem apresentar-se com limitações no desempenho das atividades físicas usuais, a melhora obtida na classe funcional de ICC pode ser considerada de grande importância.

Quando se avalia o efeito local das células-tronco sobre a contratilidade miocárdica, foi possível demonstrar melhora da contração dos segmentos que haviam sido afetados pelo infarto agudo do miocárdio, segundo o método de aferição utilizado. A terapia celular pode promover o remodelamento reverso nos pacientes com cardiomiopatia isquêmica, conforme já demonstrado pela literatura (STRAUER, 2002; PERIN, 2003; STAMM, 2003; TEMPLIN, 2011).

Tem sido relatado que as células-tronco promovem diminuição tanto dos volumes sistólicos como diastólicos finais. Portanto a melhora da fração de ejeção pode não ser um bom indicador de desfecho. Outros indicadores como dimensão da cavidade, dimensão da área do infarto e contratilidade segmentar podem ser considerados como melhores indicadores de resultados favoráveis mesmo sem incremento da fração de ejeção do ventrículo esquerdo (WILLIAMS, 2011).

Devido ao pequeno número de pacientes, a significância estatística foi obtida quando houve a comparação dos escores individuais dos segmentos miocárdicos avaliados. Entretanto, no Grupo Alterado, as variáveis usuais de WMS e WMSI apresentaram valores muito próximos da significância estatística.

O desempenho global do VE pode ser medido por meio do cálculo da fração de ejeção por ecocardiografia, sendo que o método bidimensional de Simpson é efetivo por considerar os volumes ventriculares na sístole e diástole para o seu cálculo. O método de Teicholz traz avaliação equivocada nos pacientes com déficits contráteis segmentares por somente considerar o desempenho da base do VE na sua aferição (LANG, 2005).

Após o infarto do miocárdio a fração de ejeção do ventrículo esquerdo pode ser superestimada, mesmo com severos déficits contráteis regionais. Segmentos com hipercinesia compensatória podem mascarar a gravidade da doença. Moller (2006) demonstrou que em pacientes que apresentavam comprometimento grave de contratilidade regional ($WMSI > 1,8$), a fração de ejeção estava relativamente preservada.

O padrão ouro na aferição do desempenho ventricular esquerdo é a Ressonância Magnética. Mas no cálculo do WMS e WMSI, os resultados são equivalentes (DUNCAN, 2011; LEBEAU, 2012). Mesmo sendo um exame com maior sensibilidade, os resultados da Ressonância Magnética também são examinador-dependentes (BELLENGER, 2000; CERQUEIRA, 2002; WILLIAMS, 2011).

Optou-se por não considerar o cálculo da FEVE como indicativo de melhora objetiva neste estudo. Foi demonstrado que a estratificação de risco pelas medidas e índices de contratilidade segmentar (WMSI) pode ser melhor indicadora de sobrevida e evolução dos pacientes portadores de cardiomiopatia isquêmica aguda e crônica (MOLLER, 2006; KLEIN, 2009).

Na avaliação de segurança, o estudo foi capaz de evidenciar a ausência de complicações que pudessem ser atribuídas a este método de tratamento da cardiomiopatia isquêmica crônica. Considera-se, portanto, o transplante isolado de

células-tronco adultas autólogas da medula óssea por toracotomia como sendo um procedimento seguro para este tipo de doença.

Resultados semelhantes nas avaliações de segurança no transplante isolado de células-tronco foram obtidos por Kalil (2008). Deve-se considerar entretanto, que Kalil utilizou a técnica de transplante epimiocárdico por toracotomia com pacientes portadores de cardiomiopatia dilatada não isquêmica.

O desenho do estudo não favorece a eliminação do viés de aferição dos resultados verdadeiramente positivos ou negativos por não ser controlado, não ser randomizado e não apresentar cegamento dos examinadores.

Por questões éticas, não é possível oferecer um tratamento no qual o paciente seja submetido a uma operação para implante de placebo. Ainda mais quando o procedimento envolveria toracotomia única e exclusivamente para a injeção do placebo nos pacientes de um possível grupo controle.

Nos estudos que envolvem transplante de células-tronco concomitante à cirurgia de revascularização do miocárdio, existe a possibilidade de cegamento, uso do placebo em um grupo controle e randomização. Neste caso, seria eticamente aceitável, pois estar-se-ia oferecendo um tratamento já consagrado (revascularização do miocárdio) a todos os pacientes.

O problema deste tipo de estudo é que da mesma forma que o infarto agudo do miocárdio gera o remodelamento de todo o VE, o efeito sobre a perfusão miocárdica das anastomoses aorto-coronárias também gera modificações globais. Portanto é muito difícil inferir o real papel das células-tronco neste processo. Nos estudos randomizados deste tipo que conseguiram provar diferença com o uso das células-tronco, esta foi pequena em termos de incremento da FEVE (TEMPLIN, 2011).

Os estudos com o uso isolado das células-tronco foram conduzidos principalmente para tratamento percutâneo na fase aguda do infarto ou para tratamento da cardiomiopatia dilatada idiopática e chagásica. Alguns destes trabalhos contaram com amostras significativas de pacientes, randomização e uso

do placebo. Os resultados clínicos e metodologias de aferição objetivas foram variáveis (ASSMUS, 2006; VILAS-BOAS, 2006; TEMPLIN, 2011).

Demonstrou-se nos ensaios clínicos para tratamento da cardiomiopatia isquêmica crônica: melhora hemodinâmica em repouso (índice cardíaco, volume sistólico), capacidade física (classificação da NYHA, capacidade de captação de oxigênio), índices de contratilidade ventricular esquerda e remodelamento reverso. Outro achado fundamental foi a considerável redução na mortalidade, o que permite afirmar que a terapia celular pode melhorar a sobrevida de pacientes portadores de cardiomiopatia isquêmica crônica (STRAUER, 2010).

Este estudo traz limitações metodológicas que não permitem demonstrar a eficácia das células-tronco para o uso clínico rotineiro, mas é capaz de propor a segurança do método. Também sugere tendência de melhora clínica subjetiva e objetiva e que o uso da via epimiocárdica por minitoracotomia para implante pode ser utilizado em estudos controlados com maior número de pacientes, quando a via endomiocárdica percutânea não estiver disponível.

5.1 PERSPECTIVAS FUTURAS

As células-tronco possuem um potencial terapêutico substancial. Pacientes com doenças outrora intratáveis passaram a apresentar novas possibilidades de tratamento.

Houve progresso nas pesquisas experimentais, mas tem-se que avançar ainda muito. Pouco se entende do real mecanismo pelo qual ocorre melhora quando utilizadas as células-tronco.

É perceptível o benefício que os pacientes obtêm com esta nova modalidade terapêutica. Questiona-se qual o papel das células-tronco neste processo. Será que as células-tronco se transdiferenciam em células especializadas e assim permanecem no tecido tratado? Será que as células-tronco secretam substâncias (efeito parácrino) que estimulam a divisão celular de células terminais? Será que as

células-tronco estimulam a migração de novas células para o tecido doente, intensificando o processo de reparação natural?

Precisa-se conhecer profundamente o processo de diferenciação celular. Será que o cardiomiócito criado a partir da estimulação da diferenciação das células mesenquimais realmente é uma célula totalmente capaz de contrair-se e sincronizar-se com o miocárdio nativo?

As áreas de pesquisas são extensas. Pacientes com cardiomiopatia isquêmica, chagásica e dilatada apresentaram melhoras tanto funcionais quanto de qualidade de vida.

Os primeiros estudos clínicos com terapia gênica em cardiomiopatias foram aprovados e os resultados iniciais publicados, demonstrando segurança e eficácia do método.

A partir do momento que os mecanismos de atuação das células-tronco estiverem estabelecidos, o tipo celular ideal definido, a via de administração e a quantidade de células padronizadas, a aplicação clínica rotineira poderá tornar-se realidade.

Talvez a tendência de tratamento esteja no desenvolvimento de novos fármacos, anticorpos ou citocinas que possam ser administrados (por via oral ou venosa) a partir do conhecimento da ação das células-tronco. O estímulo a regeneração cardíaca poderia, por exemplo, partir de substâncias exógenas.

Estudos randomizados, duplo-cegos e com número substancial de pacientes já foram publicados, mas as metodologias ainda são muito variáveis. Os resultados tendem a mostrar essencialmente melhora da qualidade de vida, sobrevida e estabilização do processo de remodelamento.

O campo de pesquisa realmente é grande. Os primeiros resultados experimentais com engenharia de tecidos, na tentativa de desenvolver um coração natural, já foram publicados. Miocárdio contrátil organizado já foi criado a partir de células em cultivo. Obviamente que a distância existente entre milímetros de tecido funcional para um órgão completo é imensa, mas quem sabe não inatingível.

Certamente veremos grandes avanços nos próximos anos na forma como são tratadas várias doenças: da medicina paliativa para a medicina regenerativa e curativa.

6 CONCLUSÕES

As células-tronco adultas autólogas da medula óssea, quando transplantadas por via epimiocárdica, podem ser capazes de melhorar a classe funcional de insuficiência cardíaca e a contratilidade miocárdica de segmentos acometidos do ventrículo esquerdo em pacientes portadores de cardiomiopatia isquêmica.

O transplante epimiocárdico de células-tronco adultas autólogas da medula óssea por toracotomia pode ser considerado como um procedimento cirúrgico seguro.

REFERÊNCIAS

- AMERICAN HEART ASSOCIATION (AHA). **Nomenclature and criteria for diagnosis of diseases of the heart and great vessels**. 9^a ed. Boston: Little, Brown & Co., p.253-256, 1994.
- AMERICAN HEART ASSOCIATION (AHA). ACC/AHA Guideline update for coronary artery by-pass graft surgery: Summary Article. **Circulation**, v. 110, p. 1168-76, 2004.
- AMERICAN HEART ASSOCIATION (AHA). ACC/AHA 2005 Guideline update for the diagnosis and management of chronic heart failure in the adult. **Circulation**, v. 112, p. e154-e235, 2005.
- AMERICAN HEART ASSOCIATION (AHA). Heart disease and stroke statistics – 2009 update. **Circulation**, v. 119, p. e1-e161, 2009.
- ASSMUS, B. *et al.* Transplantation of progenitor cells and regeneration enhancement in acute myocardial infarction (TOPCARE-AMI). **Circulation**, v. 106, p. 3009-17, 2002.
- ASSMUS, B. *et al.* Transcoronary transplantation of progenitor cells after myocardial infarction. **New England Journal of Medicine**, v. 355, n. 12, p. 1189-91, 2006.
- AURICCHIO, A. *et al.* Cardiac resynchronization therapy restores optimal atrioventricular mechanical timing in heart failure patients with ventricular conduction delay. **Journal of the American College of Cardiology**. v. 39, n. 7, p. 1163-9, 2002.
- BATISTA, R. J. *et al.* Partial left ventriculectomy to treat end-stage heart disease. **Annals of Thoracic Surgery**, v. 64, n. 3, p. 634-8, 1997.
- BELLENGER, N. G. *et al.* Comparison of left ventricular ejection fraction and volumes in heart failure by echocardiography, radionuclide ventriculography and cardiovascular magnetic resonance. Are they interchangeable? **European Heart Journal**, v. 21, p. 1387-96, 2000.
- BERGMANN, O. *et al.* Evidence for cardiomyocyte renewal in humans. **Science**, v. 324, n. 5923, p. 98-102, 2009.
- BÖYUM, A. Isolation of leucocytes from human blood: A two-phase system for removal of red cells with methylcellulose as erythrocyte aggregative agent. **Scandinavian Journal of Clinical and Laboratory Investigation**, Supplement 97, n. 21, p. 9-29, 1968.
- BÖYUM, A. Isolation of leucocytes from human blood. Further observations. Methylcellulose, dextran and Ficoll as erythrocyte-aggregating agent. **Scandinavian Journal of Clinical and Laboratory Investigation**, Supplement 97, n. 21, p. 31-50, 1968.

BRAILE, D. M.; GODOY, M. F. Terapia Celular: uma nova perspectiva no tratamento da insuficiência cardíaca de causa isquêmica. **Arquivos Brasileiros de Cardiologia**, v. 84, n. 5, p. 357-9, 2005.

BRASIL. Ministério da Saúde. Sistema de Informações Hospitalares do SUS. **Indicadores de morbidade, mortalidade e fatores de risco: 2005**. Brasília, 2005. Disponível em <<http://www.datasus.gov.br>>. Acesso em: 10/10/2008.

BUTANY, J. et al. A 30-year analysis of cardiac neoplasms at autopsy. **The Canadian Journal of Cardiology**, v. 21, p. 675-80, 2005.

CERQUEIRA, M. D. *et al.* Standardized myocardial segmentation and nomenclature for tomografic imaging of the heart. **Circulation**. v. 105, p. 539-42, 2002.

CHACHQUES, J. C.; GRANDJEAN, P. A.; CARPENTIER, A. Latissimus dorsi dynamic cardiomyoplasty. **Annals of Thoracic Surgery**, v. 47, n. 2, p. 600-4, 1989.

CHEN, S. L.; FANG, W. W.; YE, F. Effect on left ventricular function of intracoronary transplantation of autologous bone marrow mesenchymal stem cell in patients with acute myocardial infarction. **American Journal of Cardiology**, v. 94, p. 92-5, 2004.

CHIU, R. C. J.; AUDRIUS, Z.; KAO, R. L. Cellular cardiomyoplasty: myocardial regeneration with satellite cell implantation. **Annals of Thoracic Surgery**, v. 60, p. 12-18, 1995.

DALLAN, L. A. O. *et al.* Terapia celular associada à revascularização transmiocárdica laser como proposta no tratamento da angina refratária. **Revista Brasileira de Cirurgia Cardiovascular**, v. 23, n. 1, p. 46-52, 2008.

DOR, V. *et al.* Efficacy of endoventricular patch plasty in large post infarction akinetic scar and severe left ventricular dysfunction: comparison with a series of large dyskinetic scars. **Journal of Thoracic and Cardiovascular Surgery**, v. 116, n. 1, p. 50-9, 1998.

DUNCAN, R. F. *et al.* A study of the 16-segment regional wall motion scoring index and biplane Simpson's rule for the calculation of the left ventricular ejection fraction: a comparison with cardiac magnetic resonance imaging. **Echocardiography**, v. 28, n. 6, p. 597-604, 2011.

FELKER, G. M. *et al.* The problem of decompensated heart failure: nomenclature, classification and risk stratification. **American Heart Journal**, v. 145, s. 2, p. s18-s25, 2003.

FOLLAND, E. D. *et al.* Assessment of left ventricular ejection fraction and volumes by real-time, two-dimensional echocardiography. A comparison of cineangiographic and radionuclide techniques. **Circulation**, v. 60, n. 4, p. 760-6, 1979

FRANCO, K. L. New devices for chronic ventricular support. **Journal of Cardiovascular Surgery**. v. 16, n. 3, p. 178-92, 2001.

FRANGOIANNIS, N. G.; SMITH, C. W.; ENTMAN, M. L. The inflammatory response in myocardial infarction. **Cardiovascular Research**, v. 53, p. 31-47, 2002.

FRESHNEY R. I. Physical methods of cell separation. In: _____. **Culture of animal cells: a manual of basic technique**. New York: Alan R. Liss, Inc., 1987. p. 155-68.

FUCHS, S. *et al.* Transendocardial delivery of autologous bone marrow enhances collateral perfusion and regional function in pigs with chronic experimental myocardial ischemia. **Journal of the American College of Cardiology**, v. 37, p. 1726-32, 2001.

GOWDAK, L. H., *et al.* Implante intramiocárdico de células-tronco e progenitoras hematopoéticas combinado a revascularização miocárdica: experiência inicial. **Revista da Sociedade de Cardiologia do Estado de São Paulo**, v. 13, p. 42, 2003.

HAIDER, H. K.; ASHRAF, M. Bone marrow stem cell in the infarcted heart. **Coronary Artery Disease**, v. 16, n. 2, p. 99-103, 2005.

HAMANO, K. *et al.* Local implantation of autologous bone marrow cells for therapeutic angiogenesis in patients with ischemic heart disease: clinical trial and preliminary results. **Japanese Circulation Journal**, v. 65, p. 845-7, 2001.

HAUSMANN, H. *et al.* Decision-making in end-stage coronary artery disease: revascularization or heart transplantation? **Annals of Thoracic Surgery**, v. 64, n. 5, p. 1296-301, 1997.

HOSENPUD, J. D. *et al.* The registry of the International Society for Heart and Lung Transplantation: seventeenth official report – 2000. **Journal of Heart and Lung Transplantation**, v. 19, p. 909-31, 2000.

ISOMURA, T. Surgical left ventricular reconstruction. **General Thoracic and Cardiovascular Surgery**, v. 59, n. 5, p. 315-25, 2011.

JAIN, M. *et al.* Cell therapy attenuates deleterious ventricular remodeling and improves cardiac performance after myocardial infarction. **Circulation**, v. 103, n. 14, p. 1920-7, 2001.

JAIN, M. *et al.* Mesenchymal stem cells in the infarcted heart. **Coronary Artery Disease**, v.16, n. 2, p. 93-7, 2005.

JATENE, A. D. Left ventricular aneurysmectomy. Resection or reconstruction. **Journal of Thoracic and Cardiovascular Surgery**, v. 89, n. 3, p. 321-31, 1985.

KALIL, R. A. K. *et al.* Autologous transplantation of bone marrow mononuclear stem cells by mini-thoracotomy in dilated cardiomyopathy: technique and early results. **São Paulo Medical Journal**, v. 126, p. 75-81, 2008.

KAWAMOTO, A. *et al.* Therapeutic potential of ex-vivo expanded endothelial progenitor cells for myocardial ischemia. **Circulation**, v. 103, p. 634-7, 2001.

KLEIN, P. *et al.* Wall motion score index predicts mortality and functional results after surgical ventricular restoration for advanced ischemic heart failure. **European Journal of Cardiothoracic Surgery**, v. 35, p. 847-53, 2009.

KOCHER, A. *et al.* Neovascularization of ischemic myocardium by human bone-marrow-derived angioblasts prevents cardiomyocyte apoptosis, reduces remodeling and improves cardiac function. **Natural Medicine**, v. 7, n. 4, p. 430-6, 2001.

KONERTZ, W. *et al.* Safety and feasibility of a cardiac support device. **Journal of Cardiac Surgery**, v. 16, n. 2, p. 113-7, 2001.

KOSTANTINOS, E. *et al.* What is the oncologic risk of stem cell treatment for heart disease? **Circulation Research**, v. 108, p. 1300-3, 2011.

KOUCHOUKOS N. T. *et al.* Ischemic heart disease. In: _____. **Kirklin and Barrat-Boyes Cardiac Surgery**: morphology, diagnostic criteria, natural history, techniques, results and indications. 3rd ed., Philadelphia: Churchill Livingstone, 2003. p. 1724-78.

KOUCHOUKOS N. T. *et al.* Heart failure. In: _____. **Kirklin and Barrat-Boyes Cardiac Surgery**: morphology, diagnostic criteria, natural history, techniques, results and indications. 3rd ed., Philadelphia: Churchill Livingstone, 2003. p. 352-481.

LANG, R. M. *et al.* Recommendations for chamber quantification: a report from the American Society of Echocardiography's guidelines. **Journal of the American Society of Echocardiography**, v. 18, p. 1440-63, 2005.

LEBEAU, R. *et al.* Assessment of left ventricular ejection fraction using the wall motion score index in cardiac magnetic resonance imaging. **Archives of Cardiovascular Disease**, v. 105, p. 91-8, 2012.

MCGLAVE, P. Overview of stem cell transplantation. In: HOFFMAN, R. *et al.* **Hematology**: basic principles and practice. Philadelphia: Churchill Livingstone, 2000. p.1550-3

MENASCHE, P. *et al.* Myoblast transplantation for heart failure. **Lancet**, v. 357, p. 279-80, 2001.

MENASCHE, P. *et al.* Autologous skeletal myoblast transplantation for severe post-infarction left ventricular dysfunction. **Journal of the American College of Cardiology**, v. 41, p. 1078-83, 2003.

MENASCHE, P. Skeletal myoblast for cell therapy. **Coronary Artery Disease**, v.16, p. 105-10, 2005.

MENASCHE, P. Skeletal myoblasts and cardiac repair. **Journal of Molecular and Cell Cardiology**, v. 45, n. 4, p. 545-53, 2008.

MENDEZ, G. F.; COWIE, M. R. The epidemiological features of heart failure in developing countries: a review of the literature. **International Journal of Cardiology**, v. 80, n. 2-3, p. 213-9, 2001.

MOLLER, J. E. *et al.* Wall motion score index and ejection fraction for risk stratification after acute myocardial infarction. **American Heart Journal**, v. 151, p. 419-25, 2006.

MOTA, A. C. A.; SOARES, M. B. P.; SANTOS, R. R. Uso de terapia regenerativa com células-tronco da medula óssea em doenças cardiovasculares – perspectiva do hematologista. **Revista Brasileira de Hematologia e Hemoterapia**, v. 27, n. 2, p. 126-32, 2005.

OETTGEN, P. Cardiac stem cell therapy, need for optimization of efficacy and safety monitoring. **Circulation**, v. 114, p. 353-8, 2006.

OLIVEIRA, S. A. *et al.* Implante intramiocárdico de células-tronco autólogas no miocárdio isquêmico. Resultados com um ano de seguimento clínico. In: 31^o Congresso Nacional de Cirurgia Cardíaca, 2004.

ORLIC, D. *et al.* Mobilized bone marrow cells repair the infarcted heart, improving function and survival. **Proceedures of The Natural Academy of Science of The U.S.A.**, v. 98, p. 10344-9, 2001.

ORLIC, D. *et al.* Bone marrow cells regenerate infarcted myocardium. **Nature**, v. 410, p. 701-5, 2001.

OZ, M. C.; ARTRIP, J. H.; BURKHOF, D. Direct cardiac compression devices. **Journal of Heart and Lung Transplantation**, v. 21, n. 10, p. 1049-55, 2002.

OZBARAN, M.; OMAI, S. B.; NALBANTGIL, S. Autologous peripheral stem cell transplantation in patients with congestive heart failure due to ischemic heart disease. **European Journal of Cardiothoracic Surgery**, v. 25, n. 3, p. 342-50, 2004.

PERIN, E. C. *et al.* Transendocardial, autologous bone marrow cell transplantation for severe, chronic ischemic heart failure. **Circulation**, v. 107, p. 2294-302, 2003.

PFEFFER, M. A.; BRAUNWALD, E. Ventricular remodeling after myocardial infarction: experimental observations and clinical implications. **Circulation**, v. 81, p. 1161-72, 1990.

PIEGAS, L. S. *et al.* Risk factors for myocardial infarction in Brazil. **American Heart Journal**, v. 146, n. 2, p. 331-8, 2003.

RIBEIRO, G. C. A. *et al.* Benefício da revascularização do miocárdio em pacientes com disfunção ventricular e músculo viável: remodelamento ventricular reverso e prognóstico. **Revista Brasileira de Cirurgia Cardiovascular**, v. 20, n. 2, p. 117-22, 2005.

RYAN, D. H.; COHEN, H. J. Bone marrow aspiration and morphology. In: HOFFMAN, R. *et al.* **Hematology**: basic principles and practice. Philadelphia: Churchill Livingstone, 2000. p. 2460-8.

ROSSI NETO, J. M. Avanços no tratamento da insuficiência cardíaca. **Revista da Sociedade de Cardiologia do Estado de São Paulo**, v. 14, n.1, p. 1-10, 2004.

SAHA, G. B. *et al.* Present assessment of myocardial viability by nuclear imaging. **Seminars in Nuclear Medicine**, v. 26, n. 4, p. 315-35, 1996.

SAM, J. *et al.* Heart cell implantation after myocardial infarction. **Coronary Artery Disease**, v. 16, n. 2, p. 85-91, 2005.

SCHÄCHINGER, V. *et al.* Normalization of coronary blood flow in the infarct-related artery after intracoronary progenitor cell therapy: intracoronary doppler sudstudy of the TOPCARE-AMI trial. **Clinical Research in Cardiology**, v. 95, n. 1, p. 13-22, 2006.

SCORSIN, M. *et al.* Can grafted cardiomyocytes colonize peri-infarct myocardial areas? **Circulation**, v. 94, n. 9 suppl., p. II 337-40, 1996.

SCORSIN, M.; SOUZA, L. C. G. O transplante celular no tratamento da insuficiência cardíaca. **Revista Brasileira de Cirurgia Cardiovascular**, v. 16, n. 3, p. 183-6, 2001.

SEEGER, F. H. *et al.* Cell isolation procedures matter: a comparison of different isolation protocols of bone marrow mononuclear cells used for cell therapy in patients with acute myocardial infarction. **European Heart Journal**, v. 28, n. 6, p. 766-72, 2007.

SHILLER, N. B. *et al.* Recommendations for quantification of the left ventricle by two dimensional echocardiography: American Society of Echocardiography Committee on Standards, Subcommittee on Quantitation of Two-Dimensional Echocardiograms. **Journal of American Society of Echocardiography**, v. 2, p. 358-67, 1989.

SINGH, J. P.; GRAS, D. Biventricular pacing: current trends and future strategies. **European Heart Journal**, v. 33, n. 3, p. 305-13, 2012.

SMITHS, P. C.; VAN GEUNS, R. J.; POLDERMANS, D. Catheter based intramyocardial injection of autologous skeletal myoblasts as a primary treatment of ischemic heart failure: clinical experience with six-month follow up. **Journal of The American College of Cardiology**, v. 42, p. 2063-9, 2003.

STAMM, C. *et al.* Autologous bone marrow stem cell transplantation for myocardial regeneration. **Lancet**, v. 361, p. 45-6, 2003.

STAMM, C. *et al.* CABG and bone marrow stem cell transplantation after myocardial infarction. **Thoracic and Cardiovascular Surgery**, v. 52, p. 152-8, 2004.

STRAUER, B. E. *et al.* Repair of infarcted myocardium by autologous intracoronary mononuclear bone marrow cell transplantation in humans. **Circulation**, v. 106, p. 1913-8, 2002.

STRAUER, B. E. *et al.* The acute and long-term effects of intracoronary stem cell transplantation in 191 patients with chronic heart failure : the STAR-heart study. **European Journal of Heart Failure**, v. 12, p. 721-9, 2010.

SUTHERLAND, D. R. *et al.* The ISHAGE guidelines for CD34+ cell determination by flow cytometry. **Journal of Hematotherapy**, v. 5, n. 3, p. 213-26, 1996.

SUTTON, G. C. Epidemiologic aspects of heart failure. **American Heart Journal**, v.120, p. 1538-40, 1990.

TEMPLIN, C.; LÜSCHER, T. F.; LANDMESSER, U. Cell-based cardiovascular repair and regeneration in acute infarction and chronic ischemic cardiomyopathy – current status and future developments. **International Journal of Developmental Biology**, v. 55, p. 407-17, 2011.

TONGERS, J.; LOSORDO, D. W.; LANDMESSER, U. Stem and progenitor cell-based therapy in ischaemic heart disease: promise, uncertainties and challenges. **European Heart Journal**, v. 32, p. 1197-206, 2011.

TSE, H. F.; KWONG, Y. L.; CHAN, J. K. Angiogenesis in ischemic myocardium by intramyocardial autologous bone marrow mononuclear cell implantation. **Lancet**, v. 361, p. 47-9, 2003.

TSE, H. F. *et al.* Prospective randomized trial of direct endomyocardial implantation of bone marrow cells for treatment of severe coronary artery diseases (PROTECT-CAD trial). **European Heart Journal**, v. 28, n. 24, p. 2998-3005, 2007.

VAN RAMSHORST, J. *et al.* Intramyocardial bone marrow cell injection for chronic myocardial ischemia: a randomized controlled trial. **Journal of the American Medical Association**, v. 301, n. 19, p. 1997-2004, 2009.

VERFAILLIE, C. M. Anatomy and physiology of hematopoiesis. In: HOFFMAN, R. *et al.* **Hematology**: basic principles and practice. Philadelphia: Churchill Livingstone, 2000. p. 139-54.

VILLAS-BOAS, F. *et al.* Resultados iniciais do transplante de células de medula óssea para o miocárdio de pacientes com insuficiência cardíaca de origem chagásica. **Arquivos Brasileiros de Cardiologia**, v. 87, n. 2, p. 159-66, 2006.

WILLIAMS, A. R., *et al.* Intramyocardial stem cell injection in patients with ischemic cardiomyopathy: functional recovery and reverse remodelling. **Circulation Research**, v. 108, p. 792-6, 2011.

WOLLERT, K. C. *et al.* Intracoronary autologous bone-marrow cell transfer after myocardial infarction: the BOOST randomised controlled clinical trial. **Lancet**, v. 364, p. 141-8, 2004.

ZORNOFF, L. A. M. *et al.* Remodelamento e seu impacto na progressão da disfunção ventricular. **Revista da Sociedade de Cardiologia do Estado de São Paulo**, v. 12, n. 3, p. 371-8, 2002.

DOCUMENTOS CONSULTADOS

ASSOCIAÇÃO BRASILEIRA DE NORMAS TÉCNICAS (ABNT). **NBR/ISO 14644-1**: Salas limpas e ambientes controlados associados. Parte 1: Classificação da limpeza do ar. Rio de Janeiro, 2005.

ASSOCIAÇÃO BRASILEIRA DE NORMAS TÉCNICAS (ABNT). **NBR/ISO 14644-4**: Salas limpas e ambientes controlados associados. Parte 4: Projetos, construção e partida. Rio de Janeiro, 2005.

BRASIL. Ministério da Saúde. Conselho Nacional de Saúde. **Resolução 196** de 10 de outubro de 1996. **Diário Oficial [da] República Federativa do Brasil**, Brasília, DF, 1996.

BRASIL. Agência Nacional de Vigilância Sanitária. Resolução RDC 153 de 14 de junho de 2004. **Diário Oficial [da] República Federativa do Brasil**, Brasília, DF, 2004.

SOUZA, J.M. Implantação do centro de pesquisas em transplante de células-tronco e início da aplicação clínica para tratamento das miocardiopatias [Dissertação de Mestrado]. Curitiba: Universidade Federal do Paraná, 87p., 2009.

UNIVERSIDADE FEDERAL DO PARANÁ. Sistema de Bibliotecas. **Teses, dissertações, monografias e outros trabalhos acadêmicos**. Curitiba: Editora UFPR, 2007. (Normas para apresentação de documentos científicos, 2).

UNIVERSIDADE FEDERAL DO PARANÁ. Sistema de Bibliotecas. **Referências**. Curitiba: Editora UFPR, 2007. (Normas para apresentação de documentos científicos, 4).

UNIVERSIDADE FEDERAL DO PARANÁ. Sistema de Bibliotecas. **Redação e editoração**. Curitiba: Editora UFPR, 2007. (Normas para apresentação de documentos científicos, 9).

APÊNDICE 1. EQUIPE MULTIDISCIPLINAR

A equipe responsável pelas etapas científicas do projeto foi assim constituída:

- Prof. Dr. Danton da Rocha Loures: Professor Titular do Departamento de Cirurgia da Universidade Federal do Paraná. Coordenador da Disciplina de Cirurgia Torácica e Cardiovascular da UFPR. Idealizador e primeiro Coordenador do Centro de Pesquisas em Células-Tronco. Falecido em 2010;
- Prof. Dr. Ronaldo da Rocha Loures Bueno: Chefe do Serviço de Hemodinâmica do HC-UFPR. Responsável pela realização das cineangiocoronariografias. Coordenador atual do Centro de Pesquisas em Células-tronco;
- Prof. Dr. Cláudio Pereira da Cunha: Professor Titular do Departamento de Clínica Médica da Universidade Federal do Paraná, Chefe da Disciplina de Cardiologia. Colaborador do desenvolvimento dos protocolos clínicos;
- Dra. Maria Felicitas Niedfeld Rodriguez: Médica especialista em Imunopatologia. Chefe do Laboratório de Cultivo Celular do HC-UFPR, Professora Assistente do Departamento de Clínica Médica da UFPR. Responsável pelas rotinas laboratoriais de separação e cultivo celular;
- Dra. Mariester Malvezzi: Médica Mestre em Medicina Interna. Especialista em Citometria de Fluxo. Responsável pelos procedimentos de Identificação da População Celular do Aspirado de Medula Óssea;
- Dr. Ricardo João Westphal: Médico especialista em Cardiologia. Responsável pela execução dos Ecocardiogramas;
- Dra. Glaucia Taborda Francisco: Médica especialista em Cardiologia, responsável pelo ambulatório de Células-Tronco e auxílio na realização das cintilografias miocárdicas;
- Prof. Dr. José Zanis Neto: Professor Adjunto do Departamento de Clínica Médica da Universidade Federal do Paraná. Responsável pelo protocolo para obtenção da Medula Óssea;
- Dr. Luiz Carlos Wollner: Médico especialista em Medicina Nuclear. Chefe do Laboratório de Medicina Nuclear do HC-UFPR;

- Dr. Lauro Ervilha: Médico especialista em Medicina Nuclear. Responsável pela realização das Cintilografias Miocárdicas;
- Dra. Alexandra Cristina Senegaglia: Bióloga. Doutorado em Ciências da Saúde. Atuação em pesquisas com cultivo celular. Responsável pela execução das rotinas de cultivo celular;
- Dra. Carmen Lucia Kuniyoshi Bebelatto: Bióloga. Doutorado em Ciências da Saúde. Atuação em pesquisas com Células-Tronco. Responsável pela execução das rotinas de cultivo celular;
- Tamara Borgonovo: Bióloga. Mestre em Genética. Responsável pela preparação, separação e cultivo celular.
- Dra. Danielle Malheiros Ferreira: Bióloga. Professora Titular da Universidade Positivo. Responsável pela preparação, separação e cultivo celular.
- Dra. Oáidia Adelina Nocetti Sermann: especialista em Cirurgia Cardiovascular. Mestre em Clínica Cirúrgica. Responsável pelo atendimento dos pacientes no ambulatório de células-tronco.

**APÊNDICE 2. MATERIAIS PARA COLETA E SEPARAÇÃO DA MEDULA ÓSSEA
POR PACIENTE.**

Reagente / Material	Volume/ Unidades
Agulha 25 x 0,8 mm	20
Agulha 13 x 0,45 mm	8
Antibiótico (Penicilina/Estreptomicina)	5 ml
Azul de Tripano	1 ml
Bolsa de Coleta	(só para sistema fechado)
Cell strainer 100 µm (peneira de Nylon)	1
Solução de Ficoll-Hypaque	400 ml
Filtro de 0,22 µm	1
Filtro de 0,45 µm	1
Gaze estéril	20
Heparina	5 ml
Lâminas para microscopia	6
Luva Cirúrgica	10
Meio RPMI / TC199	900 ml
Pipeta de 10 ml	25
Pipeta de 2 ml	5
Pipeta de 25 ml	6
Pipeta de 5 ml	5
Ponteira 1-100µl	3
Ponteira 1-200µl	3
Seringa 1 ml	25
Seringa 5 ml	5
Seringa 10 ml	5
Solução Salina estéril	Bolsa de 250 ml
Tubo criogênico	6
Tubo de 15 ml	4
Tubo de 50 ml	50

ANEXOS

PARECER DO COMITÊ DE ÉTICA EM PESQUISA EM SERES HUMANOS DO HC/UFPR

Registro: CEP/HC 1897.074/2009-04

CAAE – 0090.0.208.000-09

Banpesq: 2009023760

GRUPO I.5: Novos Procedimentos / Nível Terapêutico**Título do Projeto:** “IMPLANTE MINIMAMENTE INVASIVO DE CÉLULAS TRONCO ADULTAS DE MEDULA ÓSSEA PARA O TRATAMENTO DA MIOCARDIOPATIA ISQUÊMICA.”**Pesquisador:** Prof. Dr. Danton Richilin da Rocha Loures**Área:** Cirurgia/Cirurgia Cardiovascular**Patrocinador:** Secretaria da Ciência, Tecnologia e Ensino Superior do Paraná.**Instituição:** Hospital de Clínicas da UFPR.

Objetivo do Estudo: Avaliar se o implante de células tronco de medula óssea autóloga por via intramiocárdica minimamente invasiva em pacientes portadores de miocardiopatia isquêmica crônica que possuam área de acinesia do ventrículo esquerdo, pode ser superior ao tratamento habitual no que diz respeito às variáveis de quantificação da função ventricular esquerda, contração segmentar e classe funcional de isquemia e insuficiência cardíaca obtidas por exames de imagem e anamnese.

Introdução e justificativa para a pesquisa: Estes aspectos estão descritos de forma a justificar a pesquisa, através de revisão bibliográfica do tema proposto incluindo a citação de trabalhos publicados recentemente sobre pesquisas com a utilização de células tronco de medula óssea, em animais e em seres humanos. Nos antecedentes científicos o estudo esclarece que a miocardiopatia isquêmica é a principal causa de desenvolvimento de insuficiência cardíaca congestiva e apresenta uma mortalidade de 50% em cinco anos. Explica que o mecanismo de *remodelamento ventricular*, pelo qual ocorre o desenvolvimento de insuficiência cardíaca após o infarto agudo do miocárdio, é um fenômeno resultante de alterações agudas e crônicas tanto na área enfartada quanto no tecido não necrótico ao redor do infarto. E para que ocorra a reversão do remodelamento ventricular, busca-se obter regeneração dos cardiomiócitos e desenvolvimento de neovascularização na área enfartada. No histórico, o protocolo descreve alguns resultados de estudos anteriores em seres humanos (entre 2001 e 2004), com o implante de células tronco de medula óssea durante a cirurgia de revascularização do miocárdio e, um estudo com o implante destas células na fase aguda do infarto (em 2006). Para sustentar a técnica proposta por esta pesquisa, o protocolo descreve os resultados publicados em 2008 por um estudo conduzido no Brasil e aprovado pela Conep, que utilizou exclusivamente o implante de células tronco de medula óssea por minitoracotomia.

Sumário do projeto:

- **Descrição e caracterização da amostra:** A população do estudo incluirá pacientes adultos, acima de 18 anos, portadores de miocardiopatia isquêmica crônica sem indicação de revascularização do miocárdio conforme os *Guidelines* da *American Heart Association* que cumpram todos os critérios de elegibilidade para o estudo. A estimativa do estudo é de que 20 sujeitos de pesquisa sejam incluídos, de forma consecutiva no grupo Estudo. Quanto ao tamanho da amostra, a casuística do estudo justifica que, por tratarem-se de critérios muito específicos para a seleção dos pacientes, 20 pacientes para cada grupo é aceitável para que haja validade estatística nos testes que serão utilizados. Justifica ainda que este número de pacientes também está de acordo com o histórico de diagnósticos anuais do serviço em relação à doença em questão. O estudo descreve a forma de recrutamento dos sujeitos de pesquisa, a utilização exclusiva dos dados dos pacientes obtidos em protocolo específico para o estudo e que não haverá armazenamento de materiais biológicos.
- **Critérios de inclusão e exclusão:** O critério de elegibilidade para participação no estudo, segundo o protocolo, é a inclusão de pacientes que cumpram todos os critérios de inclusão. Os critérios de inclusão e de exclusão estão bem explicitados nos itens específicos.



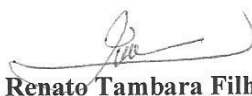
- **Adequação do desenho e da metodologia:**
- **Desenho:** O desenho proposto é de um estudo clínico não randomizado, cego para o examinador, controlado por grupo controle histórico. Segundo a descrição do desenho, os pacientes serão incluídos de forma consecutiva para obter 20 pacientes no grupo Estudo e será utilizado igual número de pacientes, no grupo Controle. Os pacientes do grupo Estudo serão submetidos à aspiração de 100mL de sua medula óssea e receberão o implante de Células Tronco Adultas Autólogas diretamente no músculo cardíaco por minitoracotomia esquerda vídeo-assistida. As informações dos pacientes do grupo Controle Histórico do próprio serviço serão utilizadas para análise estatística. Ainda no desenho, o estudo explica que os pacientes farão exames para avaliação dos resultados do implante após três e seis meses da data da cirurgia. Portanto, a fase experimental do estudo poderá durar um ano ou seis meses após a operação do último paciente.
- **Metodologia:** Serão recrutados pacientes adultos portadores de miocardiopatia isquêmica crônica sem indicação de revascularização do miocárdio ou angioplastia coronariana conforme os *Guidelines da American Heart Association* originados dos Ambulatórios de Cardiologia e de Cirurgia Torácica e Cardiovascular do HCUFPR e que cumpram todos os critérios de inclusão no estudo. A metodologia prevê a realização de avaliações clínicas e laboratoriais pré-operatórias, e exames diagnósticos da função cardíaca, com um cronograma de realização descrito em forma de tabela no planejamento da pesquisa. Quanto aos procedimentos do estudo, a metodologia descreve que os pacientes do grupo Estudo, na manhã do dia da operação terão aspirados 100mL de sua medula óssea, os quais serão processados no Laboratório de Imunogenética do HCUFPR para obtenção do concentrado de células tronco. No momento da operação, o cirurgião receberá 8 seringas contendo 1mL de solução de células tronco, as quais serão injetadas sucessivamente em volumes de 0,2mL equitativamente distribuídos na zona de transição entre a área acinética ou hipocinética do ventrículo esquerdo e o miocárdio sadio, tendo como via de acesso a minitoracotomia antero-lateral videoassistida. Finalizada a fase experimental do estudo, os dados dos pacientes do grupo Estudo serão submetidos à análise estatística juntamente com as informações do grupo controle Histórico. O protocolo analisado demonstra que estudos anteriores apresentam o benefício da terapia proposta. Estão descritos os critérios para suspender ou encerrar a pesquisa. A duração prevista do estudo será de um ano ou seis meses após a operação do último paciente.
- **Termo de Consentimento Livre e Esclarecido:** O TCLE é explicativo utilizando uma linguagem simples e considerando todos os procedimentos, orientações e garantias ao sujeito da pesquisa. Segundo o protocolo o pesquisador deve explicar a cada paciente (ou representante legal autorizado) sobre todos os aspectos pertinentes ao estudo e todos os elementos do consentimento livre e esclarecido. Durante a entrevista cada paciente terá oportunidade para fazer perguntas e será informado sobre seu direito de retirada do estudo em qualquer momento, sem qualquer desvantagem.
- **Adequação das condições:** O estudo será realizado no Hospital de Clínicas da UFPR, em Curitiba, contando com infraestrutura e pessoal qualificado.

Comentários frente à Resolução CNS 196/96:

A estrutura do protocolo atende aos pré-requisitos exigidos ao tipo de estudo proposto, e a pesquisa pode ser considerada como bem fundamentada do ponto de vista teórico e metodológico. A análise crítica de riscos e benefícios está contemplada no protocolo e no Termo de Consentimento Livre e Esclarecido, os quais demonstram de forma clara os procedimentos e os riscos para cada um deles. Quanto ao retorno de benefícios para o sujeito e/ou para a comunidade, o protocolo esclarece que os resultados esperados deste estudo clínico poderão ajudar a desenvolver uma terapia complementar para a patologia descrita. Entre os documentos apresentados constam: o protocolo do estudo e o TCLE.

Parecer: Diante do exposto este CEP considera o projeto APROVADO.

Curitiba, 18 de agosto de 2009.



Renato Tambara Filho

Coordenador do Comitê de Ética em Pesquisa em
Seres Humanos do Hospital de Clínicas da UFPR

TERMO DE CONSENTIMENTO LIVRE E ESCLARECIDO**Versão 1.0 - 06/04/09**

Estudo: Implante Minimamente Invasivo de Células-Tronco Adultas de Medula Óssea para Tratamento da Miocardiopatia Isquêmica.

Patrocinador: Secretaria de Estado da Ciência, Tecnologia e Ensino Superior - PR

Investigador: Dr. Danton Richilin da Rocha Loures

Instituição: Hospital de Clínicas da UFPR – Curitiba/PR

Endereço: Rua General Carneiro, 181 - 7º andar CTCV - 0-41-3360-1800 R 7895

Prezado Paciente,

Este termo de consentimento pode conter palavras que você não entenda. Peça ao médico do estudo ou à equipe do estudo para explicar quaisquer palavras ou informação que você não entenda claramente.

Este estudo irá avaliar se o implante de Células-Tronco no Coração em pacientes que possuem Miocardiopatia Isquêmica (Doença do Coração Enfraquecido) como seqüela de um enfarte, melhora a força dos batimentos cardíacos e diminui os sintomas causados por um coração enfraquecido.

Este termo de consentimento livre e esclarecido fala sobre o estudo para o qual você está sendo convidado a participar. Leia cuidadosamente as informações deste documento e discuta com qualquer pessoa que quiser, pode ser um amigo ou parente. Se tiver qualquer dúvida ou precisar de qualquer explicação, peça ao médico do estudo ou à equipe do estudo para responder suas perguntas.

INTRODUÇÃO

O coração pode enfraquecer por vários motivos e entre eles o entupimento dos vasos cardíacos chamados de Coronárias. O tratamento neste caso é a Cirurgia do Coração (pontes de safena e mamária). Quando ocorre um enfarte, uma parte do músculo cardíaco deixa de bater. Várias pesquisas já foram feitas e outras estão em andamento para buscar provar se a parte interna de alguns ossos do corpo chamada de células-tronco da medula óssea pode regenerar esta parte do músculo cardíaco que deixa de bater após o enfarte e formar novos vasos sanguíneos na região que sofreu o enfarte. Esta pesquisa visa implantar as células-tronco no coração através pequenos cortes no peito (três cortes de meio centímetro), para verificar se elas podem melhorar a força dos batimentos e se podem diminuir os sintomas de dor no peito, cansaço e falta de ar.

OBJETIVO E DESCRIÇÃO DO ESTUDO

Você está sendo convidado para participar deste estudo de pesquisa por que você tem o diagnóstico de Miocardiopatia Isquêmica e não é possível realizar em você a cirurgia tradicional de pontes de safena. Este estudo é patrocinado pela Secretaria de Estado de Ciência e Tecnologia e Ensino Superior do Governo do Estado do Paraná. O estudo tem o objetivo de saber se as células-tronco da medula óssea podem fortalecer o coração nos pacientes em que não é possível mais fazer cirurgia de pontes de safena, mas que têm o seu coração muito fraco e dilatado. O implante das células-tronco no coração é um procedimento em investigação, ou seja, está sendo desenvolvido para tratar o coração enfraquecido e dilatado, mas ainda não foi aprovado para uso no dia a dia.

Aproximadamente 20 pacientes com miocardiopatia isquêmica (coração enfraquecido) participarão deste estudo no Hospital de Clínicas. A duração do estudo será de aproximadamente seis meses para cada paciente participante. Durante todo o estudo você terá de fazer uma consulta no ambulatório do HC antes de fazer a cirurgia para fazer os exames pré-operatórios, deverá ficar internado por cerca de sete dias para operar o coração e se recuperar. Você deverá retornar no HC três e seis meses após a cirurgia para fazer novos exames e consultar para podermos acompanhar e avaliar a sua recuperação.

Uma vez que você aceite participar do estudo, durante a cirurgia você receberá o implante das células-tronco no coração, através de três pequenos cortes (cerca de meio centímetro – equivalente a menos que a ponta do dedo indicador) no lado esquerdo do peito. O cirurgião utilizará uma câmera de vídeo muito pequena e fina, introduzida por um destes pequenos orifícios, para guiar o implante das células no coração.

SELEÇÃO

Participarão da pesquisa pacientes acima de 18 anos que tenham o coração enfraquecido após um enfarte e que seja impossível realizar cirurgia de pontes de safena ou angioplastia (desentupir a coronária por cateterismo). Não participarão aqueles pacientes que tenham reumatismo grave, câncer, doença grave nos rins, sangramento do estômago ou intestino, tenham recebido transfusão de sangue nos últimos seis meses, tenham tido enfarte há menos de três meses e que tomem bebidas alcoólicas regularmente, usem drogas ou que possuam doença cardíaca congênita ou doença valvar moderada ou grave.

PROCEDIMENTOS DO ESTUDO

Caso você concorde em participar deste estudo, você assinará este termo de consentimento livre e esclarecido. Na primeira visita ao consultório do médico do estudo no ambulatório do HC, você passará por uma seleção feita por este médico para determinar se você possui as características necessárias para participar do estudo. O Médico do Estudo fará perguntas sobre sua saúde no passado (doença ou não), hábitos alimentares e atividade física. Você fará um exame de eletrocardiograma, ecocardiograma e cintilografia iguais aos que você já fez anteriormente. Fará uma medição dos seus sinais vitais, que incluem peso, pressão arterial (após permanecer sentado pelo menos três minutos). Além disso, o médico do estudo irá perguntar quais medicações que você usa atualmente e se você toma bebida alcoólica regularmente ou usa drogas. Também será necessário que você informe a sua data de nascimento e sexo. Serão coletados de 1 a 2 colheres de sopa de sangue (de 10 a 20 ml) para exames laboratoriais de Hematologia (contagem de algumas células do sangue), Bioquímica (dosagem de algumas substâncias do sangue, como a taxa de glicose (açúcar), alguns hormônios e alguns sais minerais do sangue. Se você concordar e tiver todas as características necessárias para participar deste estudo, você comparecerá ao ambulatório do HC para mais uma visita para mostrarmos os resultados dos exames e programarmos a data do seu internamento.

Todas as amostras de sangue que forem coletadas durante o estudo serão enviadas para o laboratório do HC para serem analisadas. O resultado dos exames será enviado ao médico do estudo. Se você quiser, pode pedir cópia do resultado dos exames ao médico do estudo. Depois que o resultado do exame ficar pronto, se tiver sobrado alguma quantidade de sangue, esta amostra será descartada.

Todos os pacientes deste estudo farão cirurgia de implante de células-tronco. Todos os pacientes farão retirada das células-tronco da medula óssea através de um ou mais pequenos furos com agulha de um dos ossos da bacia sob anestesia local e sob sedação. No mesmo dia, logo após a retirada da medula óssea, os pacientes farão a cirurgia de implante das células-tronco no músculo do coração através de três pequenos cortes (cerca de meio centímetro) no lado esquerdo do peito. Todos os pacientes permanecerão cerca de dois dias na UTI e mais cerca de cinco dias na enfermaria até terem alta. Após três e seis meses da cirurgia, realizarão novos exames para ver o resultado da operação.

RISCOS

Os riscos são os mesmos de qualquer cirurgia no coração. Em média, um em cada dez pacientes tem algum tipo de complicação. As complicações incluem: sangramento no local da cirurgia ou do coração, infecção, pneumonia, derrame, arritmia (batimentos cardíacos fora do compasso), piora súbita da força do coração, enfraquecimento dos pulmões, diminuição do funcionamento dos rins e

inclusive morte. O risco de complicação e de óbito na evolução desta doença do coração se for mantido somente o tratamento com remédios é muito grande.

EFEITOS COLATERAIS DO PROCEDIMENTO

Segundo o resultado das pesquisas com o tipo de célula-tronco que será utilizado nesse estudo, ainda não houve relato de efeitos colaterais relacionados ao implante direto no músculo cardíaco.

Durante o estudo, os possíveis efeitos colaterais do procedimento serão observados. Se ocorrer qualquer efeito colateral importante, você poderá ser retirado do estudo, para sua própria segurança.

RISCOS E PROCEDIMENTOS DO ESTUDO

Pode haver algum desconforto na coleta de sangue para os exames laboratoriais, incluindo possível dor ou formação de hematoma (mancha roxa) no local da picada da agulha. Para a realização dos outros exames como o ecocardiograma, eletro e cintilografia, não há desconforto para o paciente.

No local onde foi retirada a medula óssea (bacia) pode haver algum desconforto ou dor nos primeiros dias após a cirurgia. No peito, onde será feita a cirurgia no coração, certamente haverá desconforto, dor e também poderá haver dificuldade para respirar e ânsia de vômito. Você receberá medicamentos para controlar estes sintomas. Lembramos que estes sintomas são característicos de quem faz cirurgia no coração e não tem relação com efeitos colaterais da pesquisa.

No total, somando todos os exames, cerca de 50 ml ou 5 colheres de sopa de sangue (possivelmente um pouco mais, caso sejam necessários outros exames que o médico do estudo julgar necessário) e cerca de 100ml de medula óssea serão coletadas no estudo, quantidades que seu organismo irá repor normalmente.

BENEFÍCIOS

Não há garantia que você se beneficiará com a participação neste estudo; no entanto, você e outros pacientes poderão se beneficiar com qualquer pesquisa médica. Esses benefícios incluem a possibilidade de que este estudo possa auxiliar no desenvolvimento de uma nova terapia para você e outras pessoas que tenham a mesma doença no coração (miocardiopatia isquêmica).

TRATAMENTO ALTERNATIVO

Para os pacientes que têm a miocardiopatia isquêmica semelhante a que você tem, o único tratamento já consagrado que traz benefícios é o tratamento com remédios, mas os resultados deste tratamento são limitados. Se você tiver qualquer dúvida sobre o tratamento, peça informações ao médico do estudo. Ele informará a você sobre os riscos e benefícios associados a este tratamento. Você não precisa participar deste estudo para receber tratamento para sua condição.

NOVAS DESCOBERTAS

Você será informado sobre qualquer nova informação relacionada à sua segurança que possa influenciar seu desejo de continuar participando deste estudo, para que você possa decidir se deseja continuar participando do estudo ou não.

CONFIDENCIALIDADE

Os registros de sua participação neste estudo serão mantidos sob sigilo e confidencialidade. O objetivo é assegurar que as informações são verdadeiras e corretas.

Termo de Consentimento Livre e Esclarecido**Estudo: Células Tronco**

Todas as legislações, resoluções e códigos de ética brasileiros serão cumpridos no decorrer deste estudo. Ninguém que não participe da pesquisa ficará sabendo da sua participação.

DÚVIDAS

Você tem o direito de fazer qualquer pergunta sobre os riscos possíveis, riscos conhecidos deste estudo a qualquer momento.

Se, a qualquer momento, você tiver dúvidas quanto a este estudo ou se você apresentar um dano ou lesão relacionado ao estudo, o Dr. Danton – 9972-7413 ou Dr. Juliano – 8848-2400 ou sua equipe no Hospital de Clínicas (Dra. Oáidia, Dra. Elis, Dr. José ou Dr. João – 3360-7895 / 3360-1886 / 3360- 1800 R 7832).

Se você tiver qualquer dúvida quanto aos seus direitos como sujeito de pesquisa, você poderá entrar em contato com o Comitê de Ética que avaliou e aprovou a realização do estudo neste hospital pelo telefone (41) 3360 1896.

Não assine este termo de consentimento a menos que tenha tido a oportunidade de fazer todas as perguntas e que tenha recebido respostas satisfatórias a todas as suas perguntas.

PARTICIPAÇÃO VOLUNTÁRIA / DESCONTINUAÇÃO

Sua participação neste estudo é totalmente voluntária. Você poderá optar por participar e se afastar do estudo a qualquer momento, sem qualquer prejuízo ou perda de benefícios aos quais tem direito neste hospital.

Seu Médico do estudo poderá afastá-lo do estudo a qualquer momento se ele achar que isso é o melhor para você.

O Patrocinador poderá descontinuar este estudo a qualquer momento se for descoberto algo que possa comprometer sua segurança. Se o Patrocinador decidir interromper o estudo por alguma outra razão, o Comitê de Ética em Pesquisa do Hospital deverá aprovar as razões para isso antes da descontinuação.

COMPENSAÇÃO POR DANO AO SUJEITO DA PESQUISA

O Patrocinador se responsabilizará pelas despesas médicas decorrentes de sua participação neste estudo, bem como pela indenização referente à reparação de qualquer dano causado pela pesquisa.

Você deve seguir todas as instruções dadas pelo médico do estudo.

A Instituição onde está sendo realizada a pesquisa será responsável pela despesas que forem, de alguma forma, atribuídas à negligência ou má conduta de pessoas empregadas ou agindo em nome da Instituição.

Você deverá comunicar imediatamente o médico do estudo sobre qualquer lesão associada ao estudo. Se você tiver qualquer pergunta sobre a disponibilidade de atendimento médico ou se achar que apresentou uma doença, lesão ou emergência associada ao estudo, entre em contato com o Dr. Danton – 9972-7413 ou Dr. Juliano – 8848-2400 ou sua equipe no Hospital de Clínicas (Dra. Oáidia, Dra. Elis, Dr. José ou Dr. João – 3360-7895 / 3360-1886 / 3360- 1800 R 7832).

Assinado este termo de consentimento livre e esclarecido você não abre mão de nenhum de seus direitos legais aos quais você teria direito como participante em um estudo.

CUSTOS

Você não deverá pagar por qualquer procedimento, medicação em estudo ou teste exigido como parte deste estudo de pesquisa. Você não terá nenhum ganho financeiro, e também nenhum prejuízo por participar deste estudo.

PÁGINA DE ASSINATURA

Ao assinar este termo de consentimento livre e esclarecido, reconheço que li e entendi seu conteúdo. Entendo o objetivo deste estudo e o que minha participação nele envolve. Fiz perguntas e recebi respostas satisfatórias a cada uma delas em relação a este estudo e concordo em participar.

Entendo que receberei uma cópia deste termo de consentimento livre e esclarecido.

Ao assinar este termo não desisti de qualquer direito legal que eu teria como participante de um estudo de pesquisa.

Nome do Paciente

Assinatura

____/____/____
Data

Nome da Testemunha, se aplicável

Assinatura

____/____/____
Data

Nome do Apresentador (quem apresentou / explicou o documento)

Assinatura

____/____/____
Data



Curitiba, 18 de agosto de 2009.

Ilmo (a) Sr. (a)
Dr. Danton Richilin da Rocha Loures
Dr. Juliano Mendes de Souza
Neste

Prezados Pesquisadores:

Comunicamos que o Projeto de Pesquisa intitulado “**IMPLANTE MINIMAMENTE INVASIVO DE CÉLULAS-TRONCO ADULTAS DA MEDULA ÓSSEA PARA TRATAMENTO DA MIOCARDIOPATIA**”, foi analisado pelo Comitê de Ética em Pesquisa em Seres Humanos, em reunião realizada no dia 28 de abril de 2009, com pendências. Após sanadas foi considerado aprovado em 18 de agosto de 2009. O referido projeto atende aos aspectos das Resoluções CNS 196/96, e demais, sobre Diretrizes e Normas Regulamentadoras de Pesquisa Envolvendo Seres Humanos do Ministério da Saúde.

CAAE: 0090.0.208.000-09
CEP: 1897.074/2009-04

Conforme a Resolução 196/96, solicitamos que sejam apresentados a este CEP, relatórios sobre o andamento da pesquisa, bem como informações relativas às modificações do protocolo, cancelamento, encerramento e destino dos conhecimentos obtidos.

Data para entrega do primeiro relatório: 18 de fevereiro de 2010.

Atenciosamente,

A handwritten signature in black ink, appearing to read "Renato Tambara Filho".

Renato Tambara Filho
Coordenador do Comitê de Ética em Pesquisa
em Seres Humanos do Hospital de Clínicas/UFPR



Curitiba, 27 de setembro de 2011.

Ilmo (a) Sr. (a)
Dr. Juliano Mendes de Souza
Hospital de Clínicas da UFPR
Curitiba - PR

Prezado Pesquisador:

Comunicamos que a **Solicitação de Troca de Coordenação do Projeto** passou para o **Prof. Dr. Ronaldo da Rocha Loures Bueno**, referente ao Projeto de Pesquisa intitulado **“IMPLANTE MINIMAMENTE INVASIVO DE CÉLULAS-TRONCO ADULTAS DA MEDULA ÓSSEA PARA TRATAMENTO DA MIOCARDIOPATIA”**, foi recebido e analisado pelo Comitê de Ética em Pesquisa em Seres Humanos,

O referido documento atende aos aspectos das Resoluções CNS 196/96, e suas complementares, sobre Diretrizes e Normas Regulamentadoras de Pesquisa Envolvendo Seres Humanos do Ministério da Saúde.

CAAE: 0090.0.208.000-09
CEP: 1907.074/2009-04

Atenciosamente,

Renato Tambara Filho

Coordenador do Comitê de Ética em Pesquisa
em Seres Humanos do Hospital de Clínicas/UFPR

Nazah C. M. Youssef
Vice Coordenadora do Comitê de Ética em
Pesquisa em Seres Humanos HC/UFPR
CRM Nº 12455 - Mat.: 168920

FICHA CADASTRAL DE PACIENTES - ESTUDO COM CELULAS TRONCO HEMATOPOETICAS

NOME		IDADE (18 a 80) anos		REGISTRO HC		N:	
SEXO () Masculino () Feminino		TELEFONE ()		FAX ()			
DATA DE INCLUSÃO / /		CIDADE		E-MAIL			
Obs:							
PRÉ - OPERATÓRIO (/ /)							
CLASSE FUNCIONAL (NYHA)				LABORATÓRIO			
RX TÓRAX				VG		SÓDIO	
				HB		POTÁSSIO	
ELETROCARDIOGRAMA				LEUCÓCITOS		CÁLCIO	
				BASTÕES		CREATININA	
CATETERISMO CARDÍACO				PLAQUETAS		CPK	
CORONÁRIAS:				GLICEMIA DE JEJUM		CPK - MB	
				TAP		URÉIA	
VENTRÍCULO ESQUERDO:				TSH		T4 LIVRE	
CIRURGIA (/ /)							
Cirurgia Realizada: Enxerto		Local de Implante de células tronco: Paredes					
		Controle microbiológico:					
		→Pré-centrifugação Sem desenvolvimento de bactérias					
		→Pós-centrifugação Sem desenvolvimento de bactérias					
Citologia Diferencial:		Sistema de Coleta da Medula Óssea: Aberto () Fechado ()					
		Volume: mL		Duração do procedimento: h			
		Viabilidade celular: %					
Contagem Total de Células : x 10 ⁵ / mL em mL		% de células Mononucleares infundidas					
Contagem de Células-Tronco CD34 +:		% de Células-Tronco CD34+ infundidas					
PÓS - OPERATÓRIO - 5 dias (/ /)							
CLASSE FUNCIONAL (NYHA)				LABORATÓRIO			
RX TÓRAX				VG		SÓDIO	
				HB		POTÁSSIO	
ELETROCARDIOGRAMA				LEUCÓCITOS		CÁLCIO	
				BASTÕES		CREATININA	
				PLAQUETAS		GLICEMIA DE JEJUM	
						CPK	
						CPK - MB	
						TAP	
						URÉIA	

		PRE-OPERATORIO			3 MESES			6 MESES			1 ANO			2 ANOS		
Classe Funcional		ECO		SPECT	ECO		SPECT	ECO		SPECT	ECO		SPECT	ECO		SPECT
Data Prevista					#VALOR!		#VALOR!	#VALOR!		#VALOR!	#VALOR!		#VALOR!	#VALOR!		#VALOR!
Data Realizada		dd/mm/aa		dd/mm/aa	dd/mm/aa		dd/mm/aa	dd/mm/aa		dd/mm/aa	dd/mm/aa		dd/mm/aa	dd/mm/aa		dd/mm/aa
Segmento	Parede	Score	Perfusão	Score	Perfusão	Score	Perfusão	Score	Perfusão	Score	Perfusão	Score	Perfusão	Score	Perfusão	Perfusão
SCORE: 1- Normal / 2 - Hipocinético/ 3 - Acinético / 4 - Discinético PERFUSAO: a - Normal / b - Isquêmico / c - Fibrose																
SPECT - Perfusão: 1 - Normal / 2 - Isquêmico / 3 - Fibrose com transitoriedade associada / 4 - Fibrose																
Anterior	Basal															
	Média															
	Apical															
Antero Lateral	Basal															
	Média															
Lateral	Apical															
	Basal															
Infero-Lateral	Basal															
	Média															
Inferior	Basal															
	Média															
	Apical															
Septal Inferior	Basal															
	Média															
Septal Anterior	Basal															
	Média															
Septal	Apical															
	Ápice															
WMSI																
FRAÇÃO DE EJEÇÃO																
VOL. SISTOLICO FINAL																
VOL. DIASTOLICO FINAL																